

THÈSES

présentées
A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON
pour obtenir
le Grade de DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

Darius MOLHO

Attaché de recherches au C.N.R.S.
Licencié ès Sciences - Ingénieur agricole (G)

PREMIÈRE THÈSE

**Préparations synthétiques et mode d'action
de quelques hypoprothrombinemians
Relations entre la structure chimique et l'activité
pharmacologique**

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 28 Novembre 1953, devant la Commission d'examen

MM. D. CORDIER

Président

Ch. MENTZER

J. COLONGE

} Membres du Jury

N° d'ordre : 199

T H E S E S

présentées

A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE LYON

pour obtenir

le grade de DOCTEUR ès-SCIENCES NATURELLES

par

DARIUS MOLHO

Attaché de Recherches au C.N.R.S.
Licencié ès-Sciences-Ingénieur Agricole (G)

---:---

Première Thèse

PREPARATIONS SYNTHETIQUES ET MODE D'ACTION
DE QUELQUES HYPOPROTHROMBINEMIANTS - RE-
LATIONS ENTRE LA STRUCTURE CHIMIQUE ET
L'ACTIVITE PHARMACOLOGIQUE

Deuxième Thèse

PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE

Soutenues le 28 novembre 1953 devant la Commission d'examen

M.M. D. CORDIER

Président

Ch. MENTZER

(

Membres du Jury

J. COLONGE

)

Doyen honoraire

M. LONGCHAMBON

Professeurs honoraires

MM. VESSIOT
DULAC
VANEY

MM. MEUNIER
SIRE
FROMAGEOT

MM. LOCQUIN
de LARAMBERGUE

Doyen

M. DOUIN

Assesseur

M. EYRAUD, Calcul différentiel et intégral

Professeurs

MM. LONGCHAMBON, Minéralogie
DOUIN, Botanique
DEJARDIN, Physique
SOLLAUD, Zoologie
THIBAUD, Physique expérimentale
EYRAUD, Calcul différentiel et intégral
THORAL, Géologie
DOEUVRE, Chimie organique
CORDIER, Physiologie
PRETTRE, Chimie industrielle
KUHNER, Botanique
COURTY, Chimie-Physique
MALECOT, Mécanique rationnelle
PARIS, Chimie minérale
AUMERAS, Chimie
BERNARD, Physique
VIRET, Géologie
COLONGE, Chimie

Maître de Conférences honoraire

M. MOURIER des GAYETS

Maîtres de Conférences et chargés de Cours

MM. MEUNIER P.	Chimie biologique	Mme CHAIX	Chimie physiol.
SCHNELL	Botanique	MM. MENTZER	Chimie biolog.
JANIN	Physique	WAUTIER	Zoologie
MOUSSA	Physique	BRACONNIER	Mathématiques
NIGON	Zoologie	CUEILLERON	Chimie

Chargés de Cours Complémentaires

MM. DUFAY,	Astronomie & Phys.Sup.	MM. GAUTHIER J.	Chimie
PIERRON	Chimie	STRIFFLING	Météorologie
GARRIGUES	Botanique	PELLETIER	Géologie
Mme FIASSON	Zoologie	MAZENOT	Géologie
MM. GAUTHIER H.	Géologie	MURET	Botanique
MESNARD	Physique	FIASSON	Zoologie
PENNANEAC'H	Mathématiques	TRANCHAT	Physique

Secrétaire

M. ROUX

PROFESSORS

M. J. VAN DER WOUDE

PROFESSORS OF MEDICINE

M. J. VAN DER WOUDE
M. J. VAN DER WOUDE

M. J. VAN DER WOUDE
M. J. VAN DER WOUDE

M. J. VAN DER WOUDE
M. J. VAN DER WOUDE

PROFESSORS

M. J. VAN DER WOUDE

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

PROFESSORS

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine

M. J. VAN DER WOUDE, Chief of the Department of Medicine



A Monsieur C. MENTZER

Maître de Conférences de Chimie Biologique
à la Faculté des Sciences de Lyon

faible témoignage de notre admiration
pour son enthousiasme et son acuité
dans le domaine de la recherche scientifique.

Nous lui devons notre formation chimique et pharmacologique.

A Monsieur le Professeur P. MEUNIER

Maître de Conférences de Chimie Biologique
à la Faculté des Sciences de Lyon

à qui nous adressons nos remerciements

Il a été avec Mr MENTZER un initiateur
dans l'étude des Antivitamines.

Il nous a orientés dans la voie que
nous poursuivons.

A Monsieur le Professeur D. CORDIER

Professeur de Physiologie Générale
à la Faculté des Sciences de Lyon

à qui nous exprimons notre reconnaissance et nos sentiments respectueusement dévoués.

Ses conseils nous ont été précieux.

A ma Femme et à mes Enfants

A mes Parents

A tous mes Camarades de Laboratoire



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552307_0082

[illegible]

Qu'il nous soit permis, avant de l'exposer, d'exprimer ici à notre Maître, Monsieur Ch. MENTZER, notre sincère reconnaissance pour l'amitié, le dévouement et l'enthousiasme avec lesquels il nous a toujours soutenus dans nos recherches.

Nous présentons à Monsieur le Professeur D. COR-
DIER nos très vifs remerciements pour l'honneur qu'il nous
a fait en acceptant de présider notre Jury et pour les nom-
breux conseils qu'il nous a prodigués, tant à LYON qu'à TA-
MARIS, à l'occasion du présent travail.

Nous ne saurions enfin oublier d'exprimer notre gratitude au Centre National de la Recherche Scientifique, aux Laboratoires ROUSSEL et aux Laboratoires OBERVAL pour l'aide matérielle qui a permis la réalisation de ces recherches.

-- I N T R O D U C T I O N --

A - Position du problème -

Le domaine thérapeutique s'est enrichi, ces dernières années de l'apport indépendant de 2 séries de substances naturelles ayant permis, jusqu'à un certain degré le contrôle des syndrômes hémorragiques et thrombotiques : ce sont les vitamines K et le dicoumarol.

Dam (49) observa en 1929, qu'un régime renfermant toutes les vitamines connues jusqu'alors, ne permettait pas la survie de jeunes poussins. Les signes hémorragiques qui apparaissaient étaient évitables par l'ingestion de luzerne, et on put montrer, que le principe actif, la vitamine K₁, élaborée ultérieurement par synthèse, était seule responsable de cette guérison.

De leur côté, Schofield (239), puis Roderick (233), observaient que la présence de mélilot gâté dans l'alimentation du bétail amenait des troubles hémorragiques.

La détermination du principe actif du fourrage avarié : le dicoumarol (258), et l'étude de son action sur la prothrombine plasmatique conduisirent Quick (214), Link et son Ecole (193) (194), puis Weunier et Mentzer (160) et Woolley (293) à rechercher l'antagonisme entre dicoumarol et vitamine K.

Mentzer et Weunier (160), en présence de la similitude des formules développées du dicoumarol et de la plus simple des vitamines K : le Phtiocol dégagèrent la notion d'antivitamine K. Il est bon d'insister ici sur le fait que dans cet exemple de couple vitamine - antivitamine, c'est la découverte fortuite de ces substances naturelles puis des travaux indépendants sur chacune d'elles qui ont conduit à penser à une interférence mutuelle.

Cette notion d'antivitamine, ou d'antimétabolite en fonction de l'analogie structurale, dont la voie avait été tracée par Woods (296) et Fildes (71) lors de la découverte de l'antagonisme entre l'acide p-aminobenzoïque (corps naturel) et les sulfamides (corps synthétiques artificiels) a été beaucoup généralisée par la suite et a permis de nombreux travaux.

Ainsi, à l'heure actuelle, aussitôt après la découverte d'un métabolite essentiel, la tendance normale est de rechercher dans un but pharmacologique, l'antimétabolite correspondant et cela, par l'adjonction de modifications structurales conduisant à des produits synthétiques non

naturels. Nous citerons comme exemples : la vitamine B1 et la pyrithiamine (297), la vitamine B2 et la dichloro-flavine (130), la phénylalanine et la thiénylalanine (23), etc....

Réciproquement, la découverte des antibiotiques naturels tels que pénicilline, streptomycine, chloromycétine etc.... et l'étude de leur mode d'action a conduit les chercheurs à déterminer quel était le métabolite essentiel dont l'utilisation est bloquée par l'antibiotique en question. Ainsi, Simmonds (248) a montré un antagonisme entre la pénicilline (considérée comme un dipeptide) et des dipeptides naturels contenant la glycine. Nous mêmes (178) avons trouvé un léger antagonisme entre chloromycétine et son analogue structural, la glycylphénylalanine.

Ces couples nous prouvent combien est féconde cette voie de recherches, qui a été pour la première fois appliquée aux animaux supérieurs, grâce à l'étude de l'antagonisme vitamines K - dicoumarol (substances naturelles).

L'intérêt thérapeutique du dicoumarol conduisit les chercheurs à synthétiser au laboratoire des substances ayant des rapports structuraux avec celui-ci, capables éventuellement, de le remplacer et d'en éliminer les incidences dangereuses, à savoir, l'apparition d'un syndrome hémorragique grave au lieu d'un effet antithrombotique fugace.

b - Plan du travail

Dans le présent travail, nous signalerons dans une première partie les principales substances synthétiques élaborées déjà dans ce domaine, puis, notre propre contribution à ces recherches, à savoir : synthèse de corps nouveaux et recherche de l'entité structurale responsable de l'activité hypoprothrombinémiante de diverses séries chimiques.

Dans une deuxième partie, nous examinerons une activité secondaire que nous avons rencontrée pour plusieurs de nos agents prothrombopéniques : leur faible activité oestrogène. Un essai de dissociation de ces deux sortes d'activité sera également rapportée.

Dans une troisième partie, biologique, nous étudierons

1°) le mode d'action d'un des dérivés hypoprothrombinémiants particulièrement actifs que nous avons signalés, la phényl-indanodione et son intervention éventuelle sur les principaux facteurs de la coagulation.

2°) l'activité comparative de quelques aryl-indanodiones comme facteurs hémorragiques chez le rat.

3°) l'activité anticoagulante éventuelle, de tous ces dérivés, étudiée in vitro a - action sur les divers facteurs de la coagulation

b - action anticoagulante comparative.

Enfin, dans une quatrième partie, chimique, nous décrirons les méthodes ayant permis la synthèse des différentes substances mentionnées dans ce travail.

c - Définition des données biologiques

Coagulation sanguine et hypoprothrombinémie.

L'hypoprothrombinémie est la traduction d'un trouble de la coagulation sanguine par déficience en prothrombine. Si on admet dans ses grandes lignes la théorie de Morawitz (184), la coagulation sanguine de nature diastasique fait appel à au moins 4 éléments: le fibrinogène (globuline du plasma), la prothrombine (globuline renfermant un galacto-acétyl-glucosamino-mannose), la thromboplastine (euglobuline lipopéidique) et le calcium.

Le fibrinogène, d'origine hépatothrombocytaire, se trouve normalement dans le sang à la concentration de 2,5 g à 4 g par litre. Pratiquement, le temps de coagulation est indépendant du taux de fibrinogène, et les afibrinémies, relativement rares, ne commencent à être dangereuses qu'au dessous de 0,5 g de fibrinogène par litre (48).

La thromboplastine, d'origine tissulaire ou plasmagénique, est absente à l'état libre dans le sang circulant ce qui explique la fluidité permanente de ce dernier. Les déficiences dans la formation de thromboplastine plasmagénique au cours d'un traumatisme sont à l'origine de l'hémophilie.

Mais c'est à la prothrombine qu'est dévolu le rôle essentiel de l'hémostase. En présence de calcium et de certains activateurs, dont la thromboplastine, elle est convertie en thrombine et c'est cette dernière qui transforme le fibrinogène soluble en fibrine insoluble sous forme de caillot. La prothrombine qui se trouve normalement en quantité très faible dans le plasma sanguin (200 mg par litre selon Seegers (242)) gouverne la coagulation sanguine. En effet, les hypoprothrombinémies, à la suite d'atteintes hépatiques (cirrhoses, ictères), d'avitaminose K ou d'intoxication par le mélilot gâté, entraînent un syndrome hémorragique. Mais l'apparition intravasculaire de caillots, avec risque d'embolie, à la suite de stases sanguines, n'est pas moins grave. Elle est à l'origine des phlébites obstétricales ou post-opératoires et, d'une façon générale, est le lot de certains malades prédisposés aux thromboses (thromboses des coronaires, infarctus du myocarde etc....). On conçoit dès lors que chez de tels sujets la "fluidification" du sang soit souhaitable et que la thérapeutique ait été

amenée à faire appel aux anticoagulants.

Le premier en date, l'héparine, qui est un anticoagulant physiologique, est obtenu de nos jours industriellement par extraction à partir du poumon de bœuf. Il rend le sang incoagulable en se complexant avec les éléments circulants nécessaires à la coagulation. Son action est de courte durée. C'est pourquoi, chez les malades prédisposés aux thromboses, on a cherché à réduire les risques de coagulation intra-veineuse, non pas en rendant le sang incoagulable in situ mais en diminuant la synthèse hépatique d'un des facteurs primordiaux de la coagulation : la prothrombine.

Les premières recherches ont eu pour tendance de domestiquer dans ce sens le principe actif hémorragipare de la maladie du Mélilot gâté et nous verrons que c'est grâce à des études basées sur des analogies structurales que la pharmacopée a pu enrichir son arsenal en drogues, capables d'abaisser le taux de prothrombine sans cependant risquer l'hémorragie.

PREMIERE PARTIE

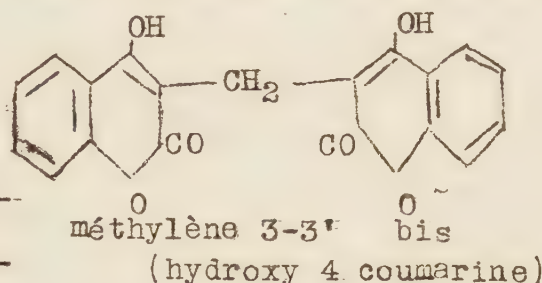
-----:-----

ANALOGIE STRUCTURALE ET ACTIVITE HYPOPROTHROMBINEMIANTE

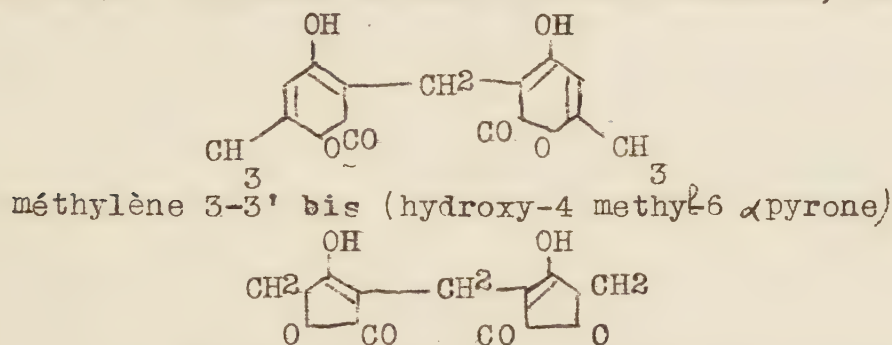
-----:-----

Historique :

En 1941, l'Ecole de Link (258) déterminait la structure du dicoumarol : (2 noyaux hydroxy-4 coumarine reliés en 3 par un pont méthylénique), et montrait son action spécifique sur la prothrombine in vivo.



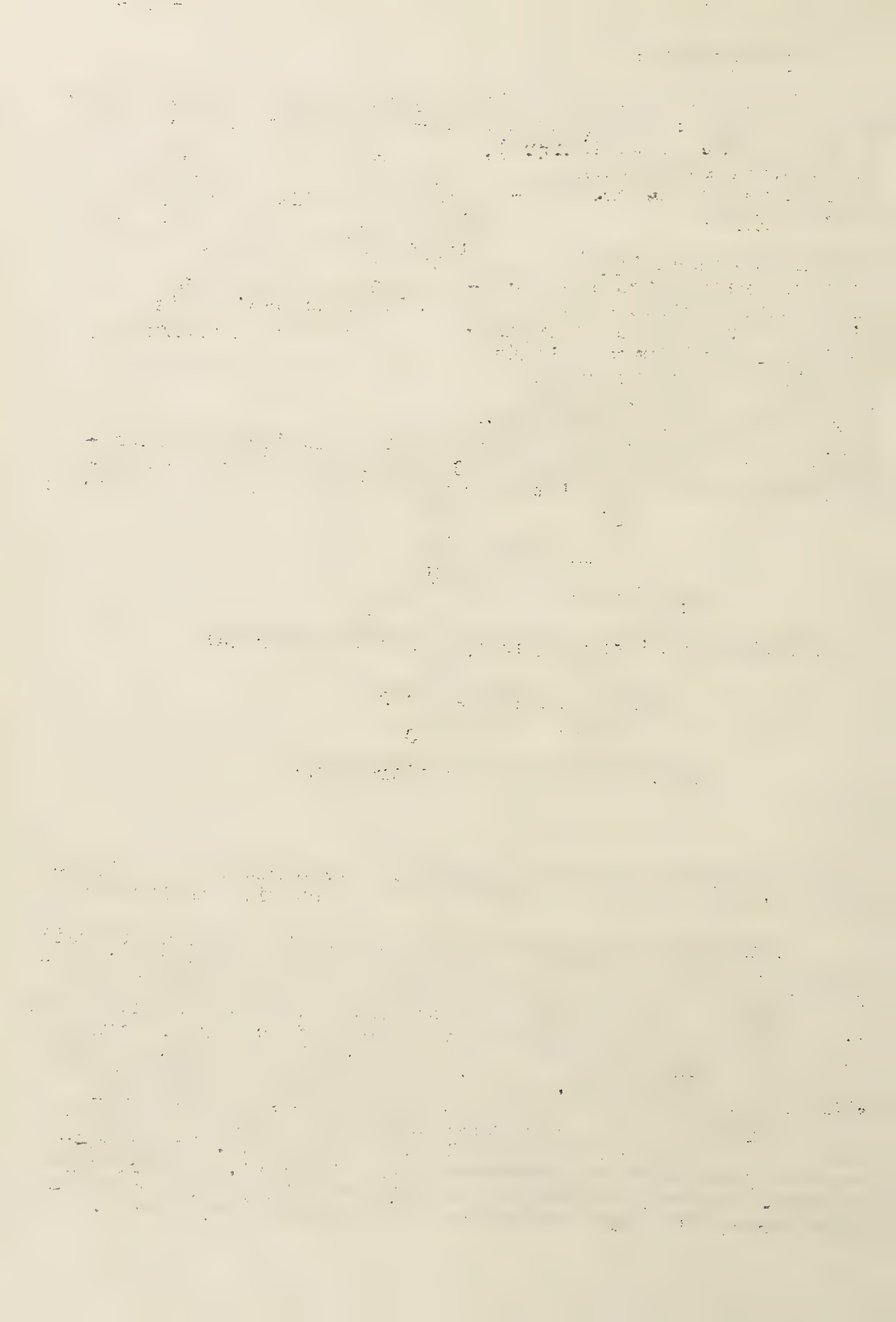
Jansen et Jensen (104) recherchèrent alors les nécessités structurales en vue d'une activité hypoprothrombinémiante. Conduits par l'idée que l'action physiologique est liée à la présence de groupements fonctionnels donnés, ils respectèrent la symétrie de la molécule de dicoumarol et la présence du noyau lactone. Les dérivés bis méthyléniques suivants s'étant révélés inactifs, ils conclurent

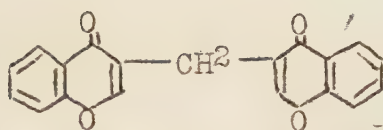


Acide méthylène bis tétronique

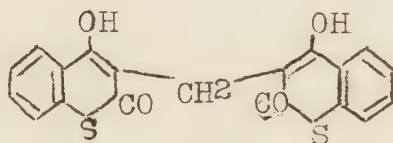
que de faibles changements apportés à la structure du dicoumarol n'étaient pas compatibles avec l'activité biologique.

von Kaulla (274) ayant admis comme hypothèse de travail que la structure coumarine était seule responsable de l'activité essaya une série de coumarines diversement substituées; il en trouva quelques unes intéressantes mais cependant douées d'une activité très éloignée de celle du dicoumarol. Meunier et Mentzer (160) reprirent alors le problème mais avec comme hypothèse fondamentale, que l'activité du dicoumarol devait être rapprochée de celle de son antagoniste, la méthyl-2-naphtoquinone et que l'activité biologique était avant tout liée à la configuration spatiale de la molécule, les groupements fonctionnels intervenant peu. En effet, la structure hydroxy-4 coumarine n'était pas indispensable, mais la symétrie autour d'un pont méthylène était nécessaire. Ainsi :

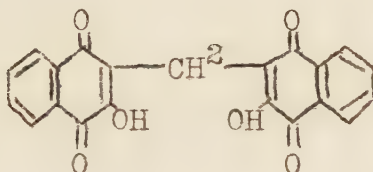




La dichromone : méthylène 3-3' bis chromone (150)



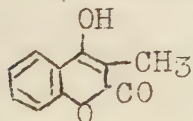
La dithio coumarine : méthylène 3-3' bis (hydroxy-4-thio 1 coumarine) (149) (150)



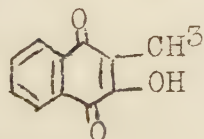
Le diphticol : méthylène 3-3' bis (hydroxy-2 naphthoquinone 1-4) (162)

se montrèrent hypoprothrombinémiants.

A l'appui de cette théorie, on peut ajouter le fait que le dicoumarol présente un antagonisme non seulement



3-méthyl-4 Hydroxy-4 coumarine

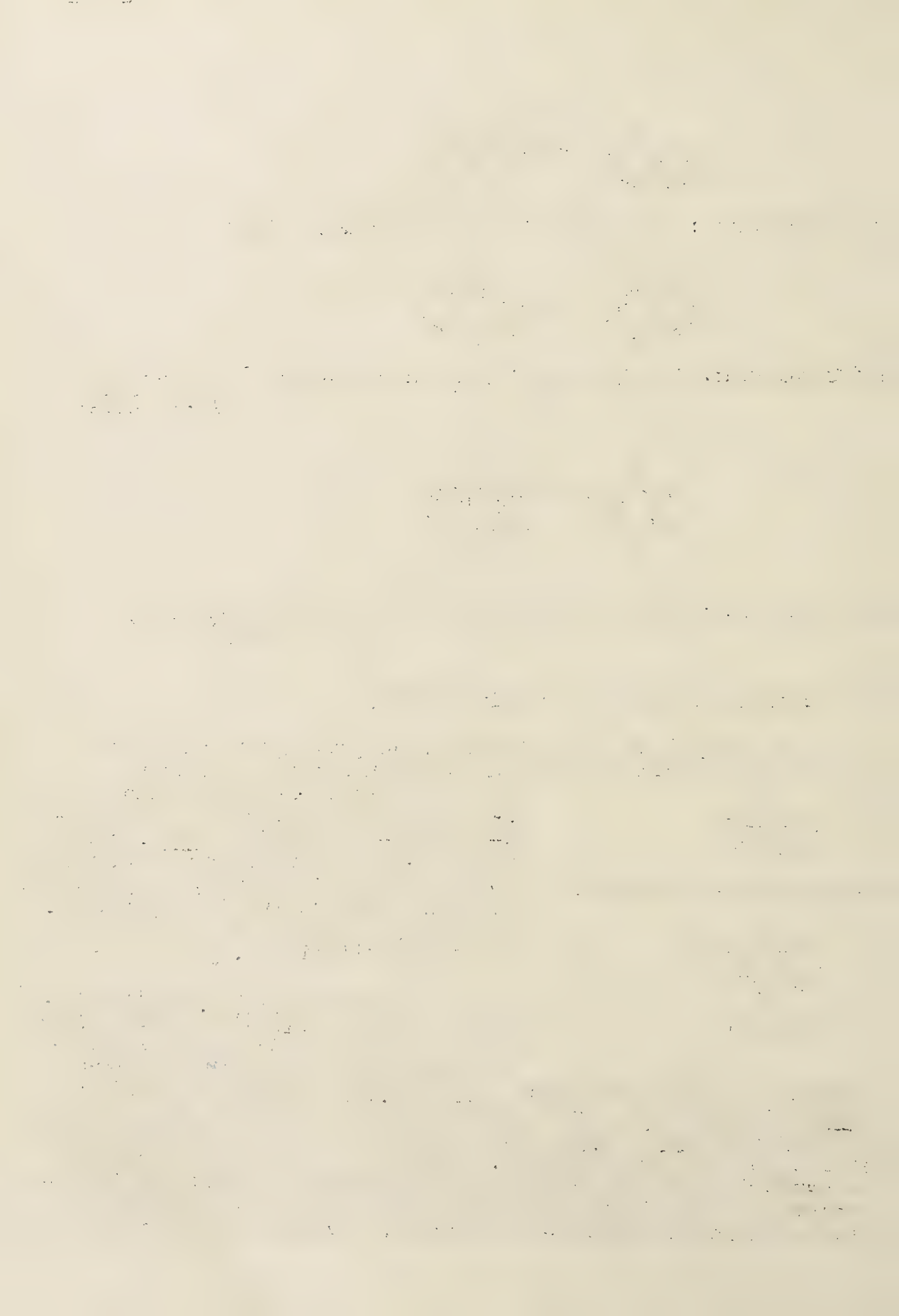


Phticol

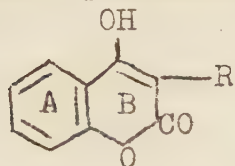
avec la méthyl-2-naphthoquinone 1-4 mais également avec la méthyl-3-hydroxy-4 coumarine (161), substance dont il dérive par doublement moléculaire. D'ailleurs, le phticol, molécule dont dérive le diphticol, était déjà connu comme étant une véritable vitamine K. (8)

Cependant et indépendamment, Link et Coll (194) d'une part, avec comme méthode de dosage de la prothrombine une méthode à un temps

dérivant de celle de Quink (213) (214); Mentzer et Meunier (153) d'autre part, avec la méthode photométrique de Meunier et Dreyfuss (158) (159) pour mesurer les temps de coagulation et les taux de prothrombine, arrivèrent à la conclusion que la symétrie dans la molécule de dicoumarol n'était pas indispensable à l'activité antivitaminique K et qu'il suffisait d'un seul noyau hydroxy-4 coumarine, diversement substitué en

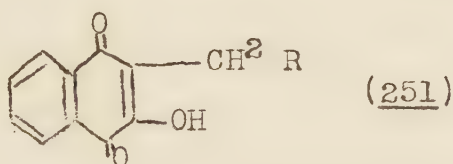


3, pour obtenir un anticoagulant. Pour Link (194), le radical R en 3 pouvait être quelconque, aliphatique ou aromatique;



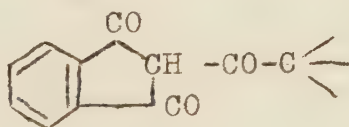
l'optimum d'action s'obtenant avec un groupement cétonique en position 5 dans la chaîne par rapport à l'OH en 4 de la coumarine. Meunier et Mentzer mettaient également en évidence entre autres, l'activité de la chlora-3 (163) (164) et de la

phényl-3 (hydroxy-4 coumarines) (165) et Mentzer montrait que le noyau benzénique A de la coumarine ne devait pas porter de substituants (153). Il était donné à Smith (251) de constater que le principe de la suppression de la symétrie sans destruction de l'activité, pouvait être généralisé à d'autres structures que celles possédant le noyau hydroxy-4 coumarine. C'est ainsi que partant du diphticol de Meunier et Mentzer (162), Smith réalisa une série d'antivitamines K du type suivant :

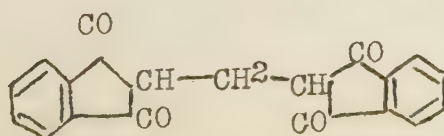


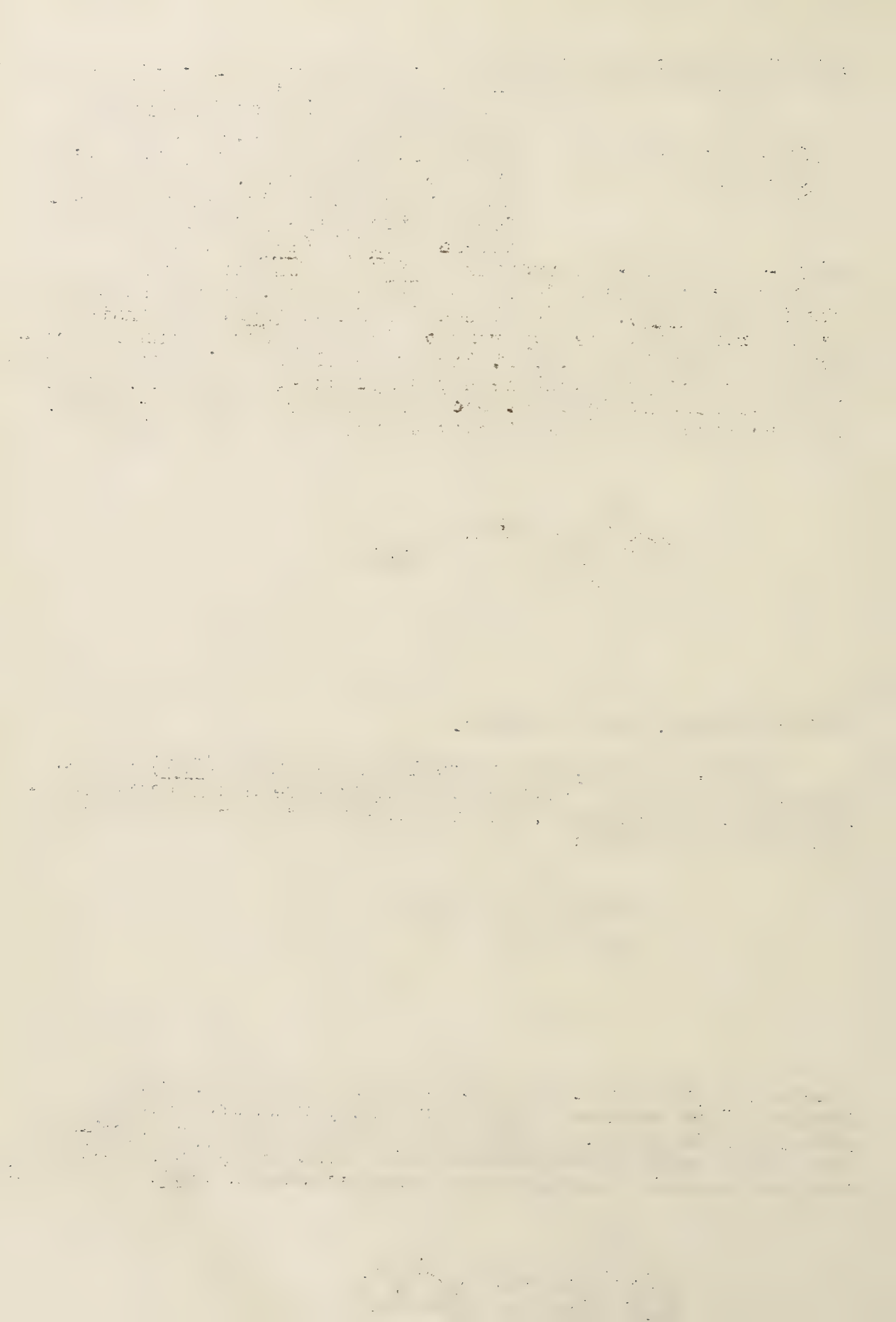
toutes actives, mais toxiques.

Enfin, en 1944, Kabat, Stohlmann et Smith (117) apportèrent une nouvelle contribution importante aux hypoprothrombinémiants asymétriques. Ils réalisèrent des triones dont le type est le suivant :



à activité prononcée. Les deux parties de cette formule devaient être réunies obligatoirement par un groupement cétonique. En effet, la structure indanedione, avec symétrie de la molécule et présence d'un pont méthylène, avait déjà été trouvée inactive par Jansen et Jensen (104)





Quand nous avons entrepris nos recherches dans le domaine des hypoprothrombinémiants, il se dégageait par conséquent les notions suivantes :

- 1°) la symétrie de la molécule n'est pas obligatoire dans le domaine des hydroxy-4-coumarines comme dans celui des hydroxy-quinones.
- 2°) les deux parties de la molécule peuvent être séparées soit par un méthylène, soit par un groupement -CO-
- 3°) le noyau A doit être nu.

Recherches personnelles --

Nous avons entrepris nos recherches d'hypoprothrombinémiants :

- 1°) dans la série des corps symétriques.
- 2°) dans la série des corps asymétriques.

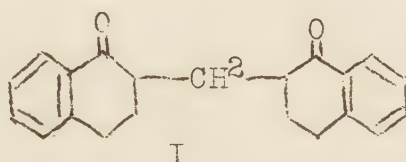
Pour pouvoir déterminer la valeur biochimique des corps, que le chimiste organicien est capable de synthétiser, il faut posséder des tests biologiques capables de discerner les corps actifs de ceux qui ne le sont pas.

L'expérimentation relative à la première partie de notre travail sur l'analogie structurale et l'hypoprothrombinémie a été effectuée sur le lapin. Les substances à étudier sont administrées per os, en suspension dans l'huile d'arachide, à de jeunes lapins pesant de 1,5 à 3 kgs. Un jour, puis 2 et 3 jours après l'administration de la drogue, on prélève du sang de l'animal sur citrate de Na comme décalcifiant. On centrifuge pour éliminer les éléments figurés et on mesure la teneur en prothrombine du plasma obtenu, par la méthode de Quick (213) (214) ou par la méthode cinétique de Meunier (159).

Corps symétriques.

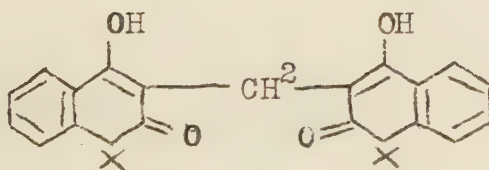
Tout d'abord pour situer le problème, nous avons voulu vérifier si la configuration spatiale seule importait ou si intervenaient également, dans l'activité physiologique, les groupements fonctionnels.

Nous avons donc cherché à préparer des corps symétriques avec pont méthylène et encombrement spatial équivalent à celui du dicoumarol, et dérivant de vitamines K connues, suivant le principe du "doublement moléculaire" de Mentzer. C'est ainsi qu'en partant du Méthyl-2-naphtol et de la méthyl-2-tétralone, agissant selon Fieser (67), chez le poulet, comme vitamines K à la dose du γ , on doit théoriquement obtenir par doublement moléculaire deux antivitamines K actives. Nous n'avons pas pu obtenir le méthylène bis naphtol, mais la méthylène bis tétralone (I), facilement accessible, essayée chez le lapin, s'est révélée, contrairement à notre attente, complètement inactive, aussi bien sur le taux de prothrombine, par la méthode de Quick, que sur le temps de coagulation photométrique, par la méthode de Meunier



méthylène 2-2' bis(tétralone 1)

Par conséquent, le doublement moléculaire d'une vitamine K n'aboutit pas nécessairement à une antivitamine K. Il semble dès lors, d'après cette expérimentation, que la configuration spatiale ne soit pas seule responsable de l'activité du dicoumarol, et que certains groupements fonctionnels qui se trouvent dans le noyau hydroxy-4-coumarine et qui peuvent, également intervenir dans le noyau hydroxy-quinonique, soient indispensables à l'activité hypoprothrombinémiante. Nous n'avons pas poussé plus avant nos recherches dans le domaine des corps symétriques en fonction des groupements fonctionnels indispensables, ce problème, comme nous l'avons vu dans l'historique ayant été étudié plus à fond par Mentzer (152): les structures actives ayant toutes le schéma suivant :



où (X = O, S, N C = O)

Corps asymétriques.

Ayant ainsi acquis la conviction que certains groupement étaient indispensables dans la série des corps symétriques, il fallait se demander, s'il en était de même en série asymétrique.

Nous avons d'abord envisagé comme modèles, des structures apparentées à celles du dicoumarol, et partant, en série hétérocyclique. Mais il ne faut pas oublier que le dicoumarol est une antivitamine K et les vitamines K sont toutes naphthaléniques; il nous faudra donc, en quête d'anticoagulants agissant comme antivitamine K, envisager également des structures de la série naphthalénique.

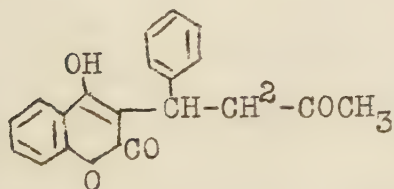
La série des structures indaniques n'a été étudiée qu'ultérieurement quand nous avons compris que les groupements fonctionnels jouaient un plus grand rôle que la série chimique dans laquelle se trouvaient les corps étudiés.

Nous aimons à signaler ici que quelques uns des corps décrits dans ce travail, à savoir les corps XVI, XVII, LVII, LVIII, LIX, LXI, LXIII, XCVII, XCVIII, XCIX, C, ont été étudiés chez le lapin en collaboration avec J. Moraux lequel en examinera avec plus de détails l'action anticoagulante éventuelle tant sur la courbe photométrique de P. Meunier que sur le temps de Quick (Cf. thèse Sciences).

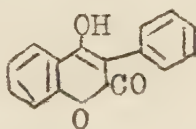
Série hétérocyclique -

Les coumarines - Parmi les coumarines asymétriques dont l'action hypoprothrombinémiant a été déjà décrite, les plus actives et dans l'ordre décroissant

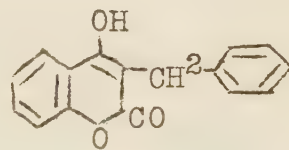
sont les suivantes :



(Acétyl-3₂ Phényl 3₁)éthyl 3
hydroxy 4 coumarine (194).

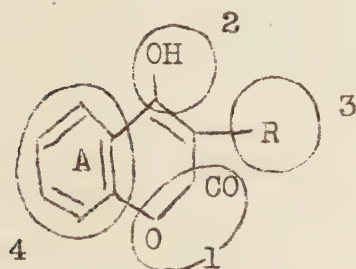


Phényl 3 hydroxy 4 coumarine
(194, 165)



Benzyl 3 hydroxy 4
coumarine (194)

Nous constatons en premier lieu que l'espace moléculaire occupé par ces substances est très varié mais que la structure commune se ramène au schéma suivant, qui met en lumière les 4 arrangements fonctionnels suivants :



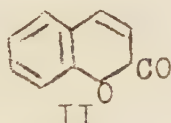
1°) le groupement (-O-CO-) commun à toutes les α -pyrones,

2°) l'hydroxyle-OH en 4

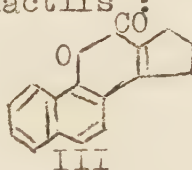
3°) le radical R, en 3, aromatique ou arylaliphatique.

4°) le noyau A qui ne porte aucun substituant.

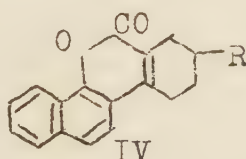
1°) groupement -O-CO- : Nous avons en premier lieu cherché à savoir si la simple structure coumarinique était suffisante à l'activité. Il nous a été donné de constater d'emblée que la structure coumarine ordinaire était dénuée d'activité biologique : les corps suivants essayés selon la méthode de Meunier sont inactifs :



II
coumarine



III
cyclopentényl-3-4 benzo 7-8 coumarine
F.215°

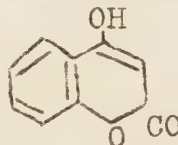


R=H cyclohexenyl-3-4 benzo 7-8 coumarine F.190°

R=CH₃ (m-méthyl cyclohexenyl)3-4 benzo 7-8 coumarine
F.193°

Le groupement (-O-CO) dans les coumarines n'est donc pas seul responsable de l'activité, conformément d'ailleurs à des faits déjà établis (153).

2°) groupements (-O-CO) et (OH en 4) : Les travaux de Lehmann (134) ont montré que l'hydroxy-4 coumarine sans radical en 3 est inactive. Le groupement (-O-CO) et OH en 4 ne sont donc pas suffisants pour la manifestation de l'activité.

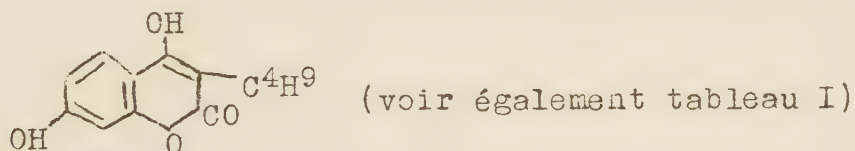


3°) groupements (-O-CO), (OH en 4) et radical (R en 3) : Montzer (152) a montré que les méthyl-3, éthyl-3, hydroxy-4 coumarines étaient inactives. Dans le but de préciser les conditions de l'activité hypoprothrombinémiante en fonction de la structure, nous avons préparé par synthèse des structures coumariniques variées, et nous avons réuni dans les tableaux I, II, III, IV et V les résultats des essais in vivo chez le lapin.

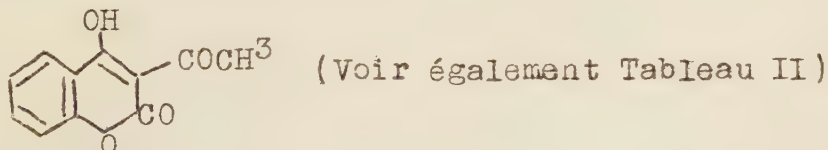
Certaines des substances signalées n'ont pu être essayée physiologiquement parce qu'elles ont été obtenues en trop petite quantité.

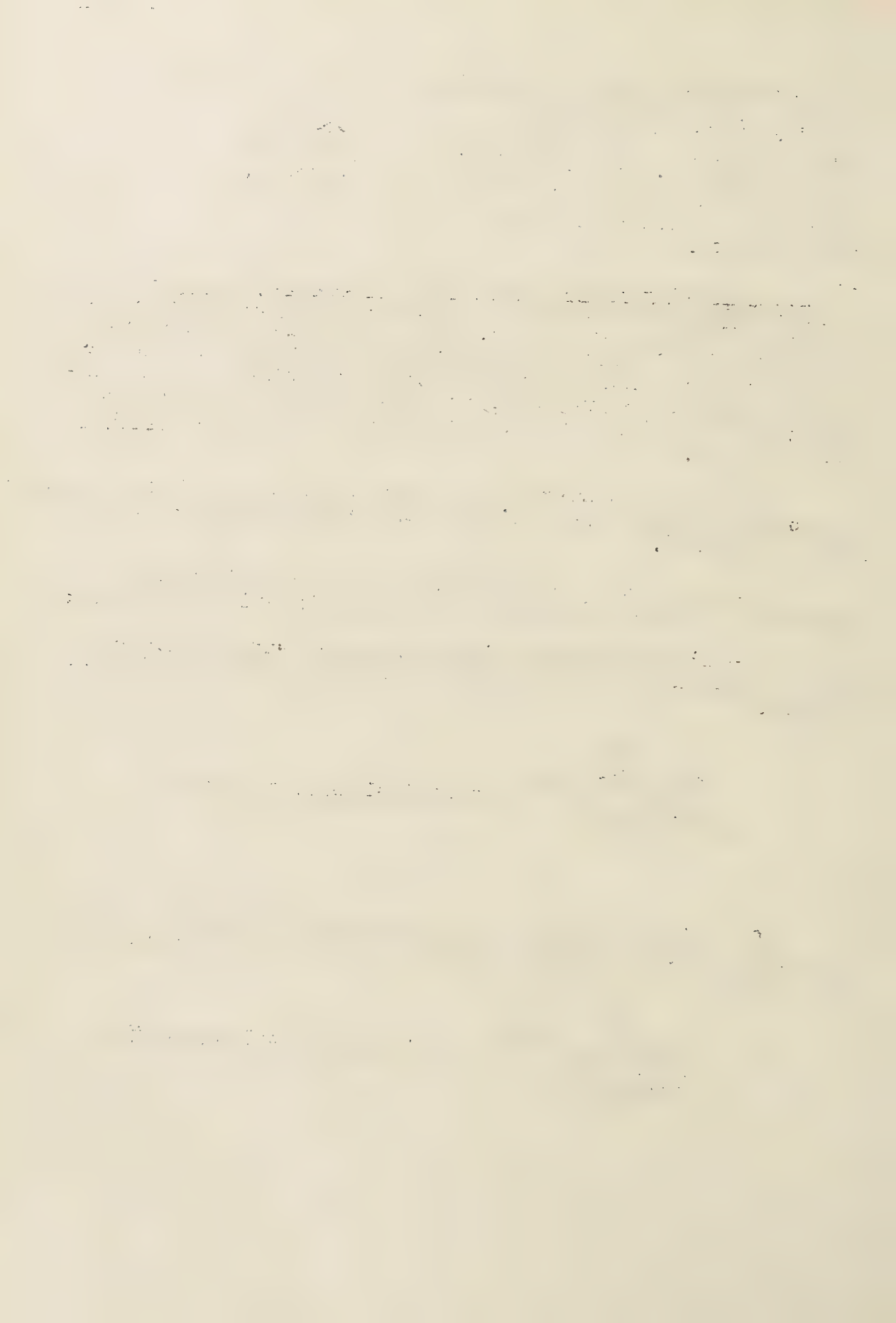
Il ressort de ces tableaux que les modifications suivantes donnent naissance à des corps inactifs, à savoir :

1° - l'introduction d'un hydroxyle supplémentaire sur le noyau A de la coumarine comme dans le corps VI par exemple.

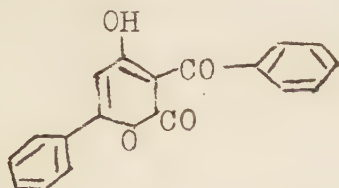


2° - l'introduction d'un groupement cétonique entre la chaîne R et le noyau coumarine, comme dans le corps X par exemple





3° - la destruction du noyau A tout en conservant la structure hydroxy-4 pyrone, comme dans le corps XIII

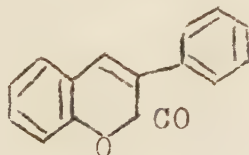


(Voir également Tableau III)

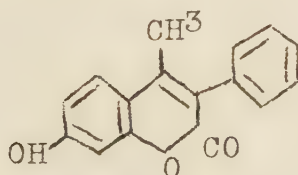
Il apparaît dès lors que si les groupements fonctionnels sont nécessaires, une certaine configuration spatiale doit être respectée, la nature du radical R en 3 jouant un rôle prépondérant.

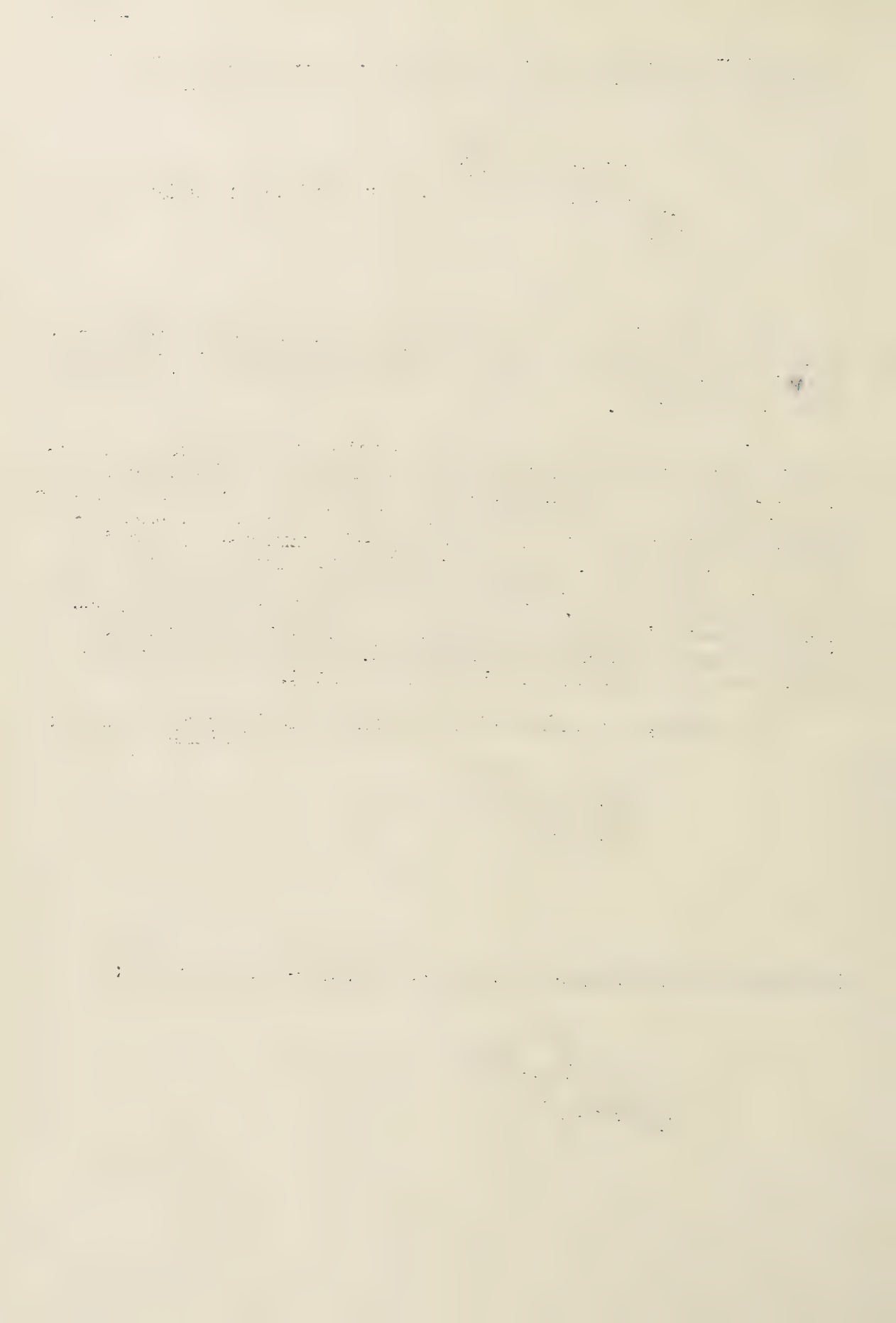
C'est pourquoi nous avons repris le problème en cherchant à obtenir par synthèse les coumarines substituées en 3, soit par un noyau aromatique, soit par un radical benzyle respectant de la sorte l'espace moléculaire de la phényl-3 hydroxy-4 coumarine et de la benzyl-3 hydroxy-4 coumarine, toutes deux actives. Nous avons effectué dans chacune de ces deux séries les modifications qui sont consignées dans les tableaux IV et V. L'analyse de ces diverses substitutions permet d'affirmer que dans le cas des coumarines, l'espace moléculaire étant respecté, la condition primordiale est la présence de l'hydroxyle en 4.

En effet, la phényl-3 coumarine sans hydroxyle en 4 :

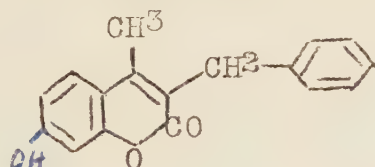


de même que la phényl-3 méthyl-4 hydroxy-7 coumarine :





et la benzyl-3 méthyl-4 hydroxy-7 coumarine :



par exemple où l'hydroxyle a migré de la position 4 en la position 7, sont inactives.

Notons également que la présence d'un substituant supplémentaire ($-O-CH_3$ ou $-CH_3$) dans le noyau A de la phényl-3 hydroxy-4 coumarine, comme dans le cas des corps XVI et XVII, réduit fortement l'activité. (Ces deux derniers corps ont été essayés chez le lapin par Moraux). (183)

Cependant dans ces deux séries chimiques, si les deux corps de base, à savoir la phényl-3 hydroxy-4 coumarine et la benzyl-3 hydroxy-4 coumarine, sont les substances les plus actives, il n'en reste pas moins qu'elles sont environ dix fois moins anticoagulantes que le dicoumarol. Pour arriver à l'activité maximum tout en restant dans la série des corps asymétriques, nous avons songé à appliquer la notion de cycle potentiel en nous rapprochant de la forme moléculaire du dicoumarol. En effet, deux substances se ressemblent quant à leur forme, dans la mesure où leurs formules développées sont semblables; et tout se passe au sein de la cellule vivante comme si celle-ci n'était pas capable de reconnaître les "cycles potentiels" non fermés des cycles réels. Ainsi la notion de cycle potentiel a donné des résultats de valeur dans l'étude pharmacologique des oestrogènes (151). En particulier, l'acide doisynolique, obtenu par synthèse, à la suite de la rupture du noyau 5 de la folliculine naturelle, a présenté une activité vingt fois plus grande que le produit de départ (170) et l'acide allénolique, puissant oestrogène (98) s'obtient également à la suite de la rupture de des noyaux 4 et 5 de l'équilénine.

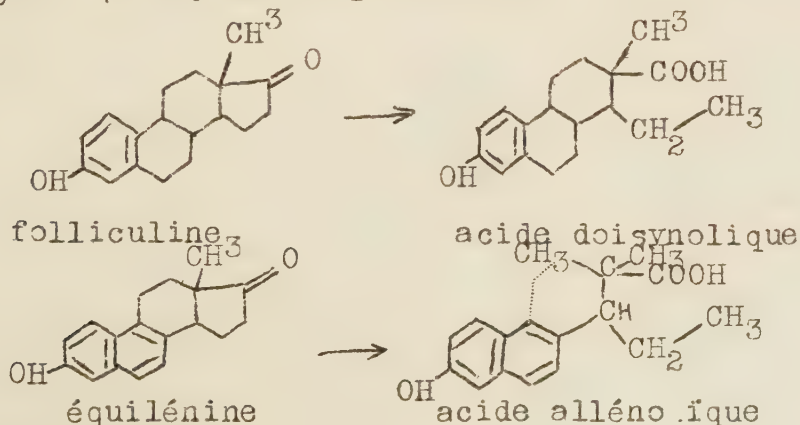
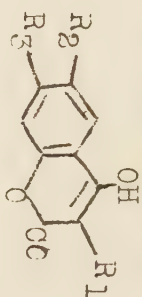


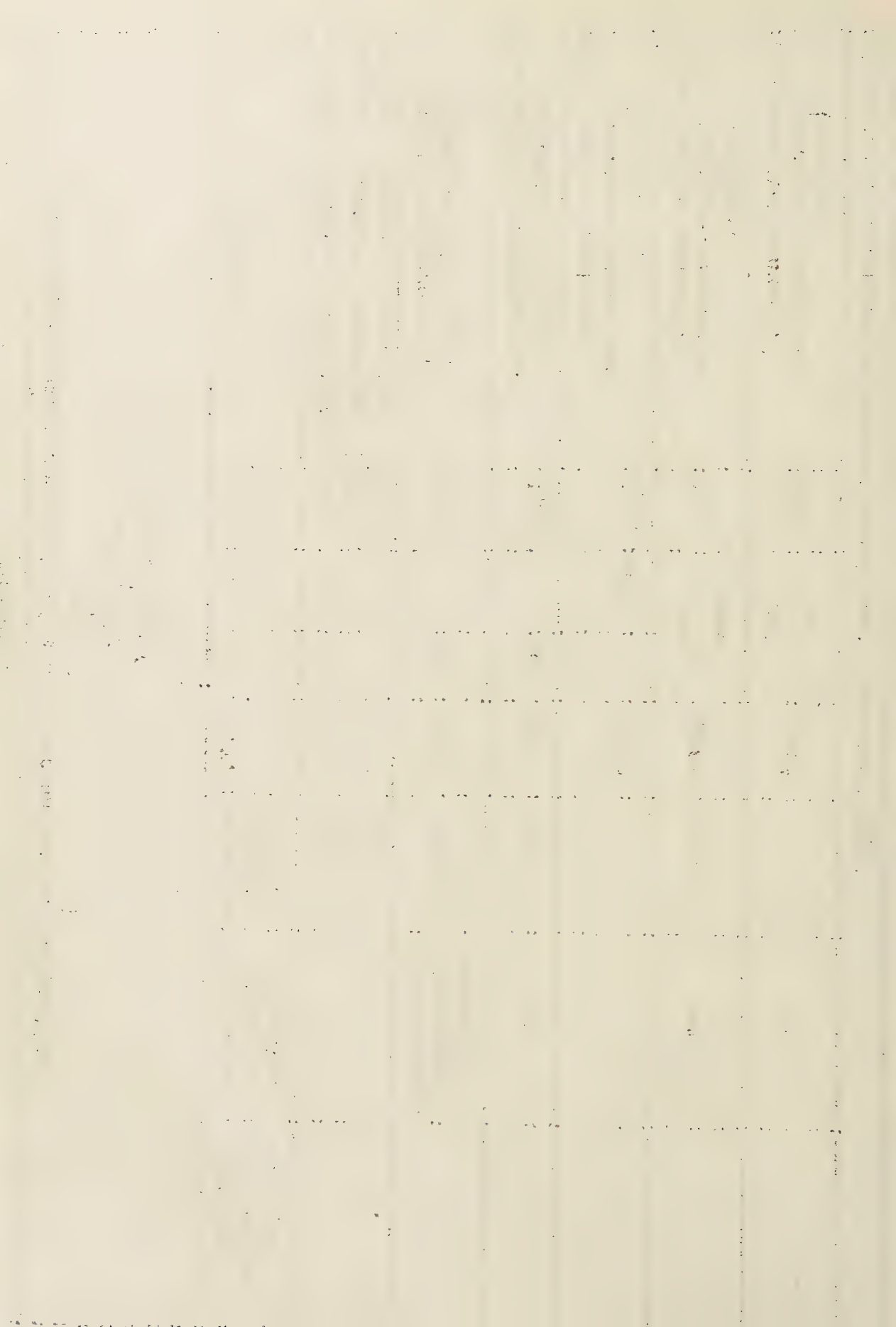
Tableau I

Hydroxy-4 coumarines substituées en 3 par une chaîne aliphatique

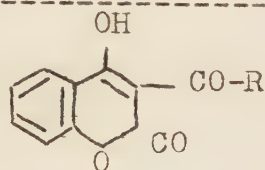


N° d'ordre	R ₁	R ₂	R ₃	P.F.	Maxima du spectre U.V.	Méthode de synthèse organique	Activité anti-vitaminique K
méthyl-3 hydroxy-4 coumarine(°)	CH ₃	-	-	-	300		0
éthyl-3 hydroxy-4 coumarine(°)	C ₂ H ₅				300		0
butyl-3 hydroxy-4 coumarine(°)	C ₄ H ₉				305		0
V - éthyl-3 dihydroxy-4,7 coumarine (CII HI004)	C ₂ H ₅		OH	230°	300	condensation thermique malonique	0
VI - butyl-3 dihydroxy-4,7 coumarine (CI3HI404)	C ₄ H ₉		CH	206°	300	"	0
VII - éthyl-3 methoxy-6 hydroxy-4 coumarine (CI2 HI2 04)	C ₂ H ₅	OCH ₃		203°			
VIII- éthyl-3 benzo-6,7 hydroxy-4 coumarine (CI5HI203)	C ₂ H ₅			268°	395-410	"	
IX n-propyl-3 benzo-6,7 hydroxy-4 coumarine (CI6HI403)	C ₃ H ₇			230°		"	

(°) corps de référence obtenus et testés par C. Mantzer (152)



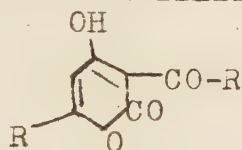
Hydroxy-4 coumarines substituées en 3 par
un groupement cétonique



N° d'ordre	R	P.F.	Préparation	activité
			synthétique	anti-vita-
			selon	minique K
X - acétyl-3 hydroxy-4 coumarine (C ₁₁ H ₈ O ₄)	CH ₃	134°	Anschütz (10)	0
XI - benzoyl-3 hydroxy-4 coumarine (C ₁₆ H ₁₀ O ₄)	C ₆ H ₅	144°	Heilbron et Hill (90°)	0

Tableau III

Hydroxy-4 α -pyrones substituées en 3 par
un groupement cétonique



N° d'ordre	R	P.F.	Prép. synth.	activité
			selon	anti-K
XII - acide déhydracétique (C ₈ H ₈ O ₄)	CH ₃	109°	Komnenos (128)	0
XIII - acide benzoyl-déhydracétique (C ₁₈ H ₁₂ O ₄)	C ₆ H ₅	174°	Perkin (205)	0
XIV - acide anisoyl-déhydracétique (C ₂₀ H ₁₆ O ₆)	pC ₆ H ₄ OCH ₃	190°	Wahl et Silberzweig (276)	0

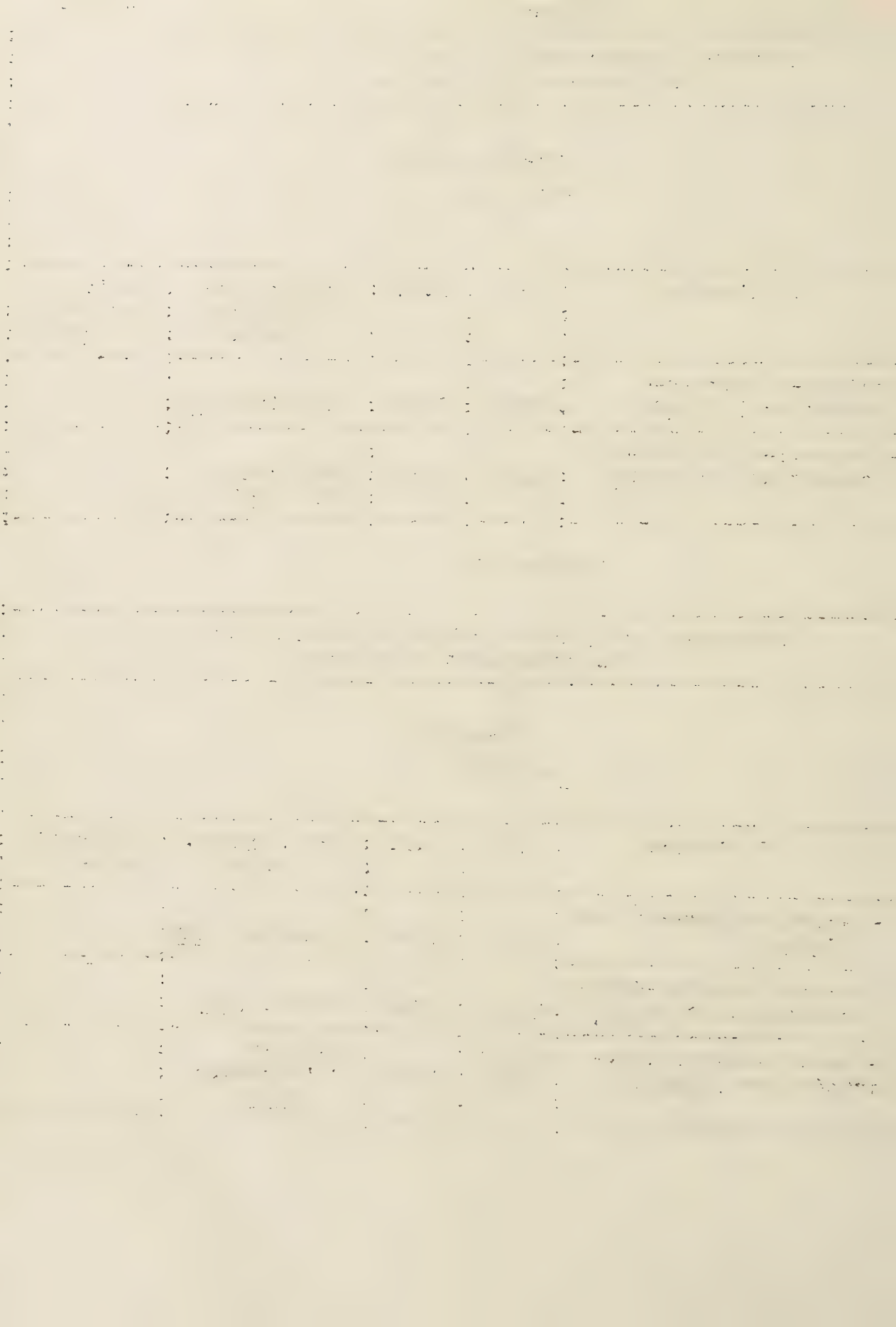
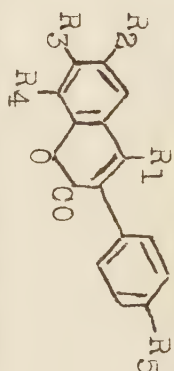


Tableau IV

Aryl-3 coumarines sur le modèle de la phényl-3 hydroxy-4 coumarine



N° d'ordre	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	P.F.	Réf.	Méthode de synthèse	activité anti-vita- minique K
XV - Phényl-5 hydroxy-4 coumarine (C ₁₅ H ₁₀ O ₃)	OH					239°	(194) (165) (267) (154)	condensation thermique mécanique	+ +
XVI - phényl-3 hydroxy-4 méthoxy-6 coumarine (C ₁₆ H ₁₂ O ₄)	OH	OCH ₃				220°	(268)	"	I/2 +
XVII - Phényl-3 hydroxy-4 méthyl-6 coumarine (C ₁₆ H ₁₂ O ₃)	OH	CH ₃				195°	(268)	"	I/2 +
XVIII - Phényl-3 hydroxy-4 méthoxy-8 coumarine (C ₁₆ H ₁₂ O ₄)	OH			OCH ₃		198°	(268)	"	
XIX - Phényl-3 hydroxy-4 cyclohexyl-6,7 coumarine (C ₁₉ H ₁₆ O ₃)	OH		cyclo- hexyl			178°		"	
XX - Phényl-3 coumarine (C ₁₅ H ₁₀ O ₂)	H					140°	(21) (278)	condensation thermique	0
XXI - Phényl-3 méthyl-4 bromo-6 coumarine (C ₁₆ H ₁₀ BrO ₂)	CH ₃	Br				134°		Fechmann	0

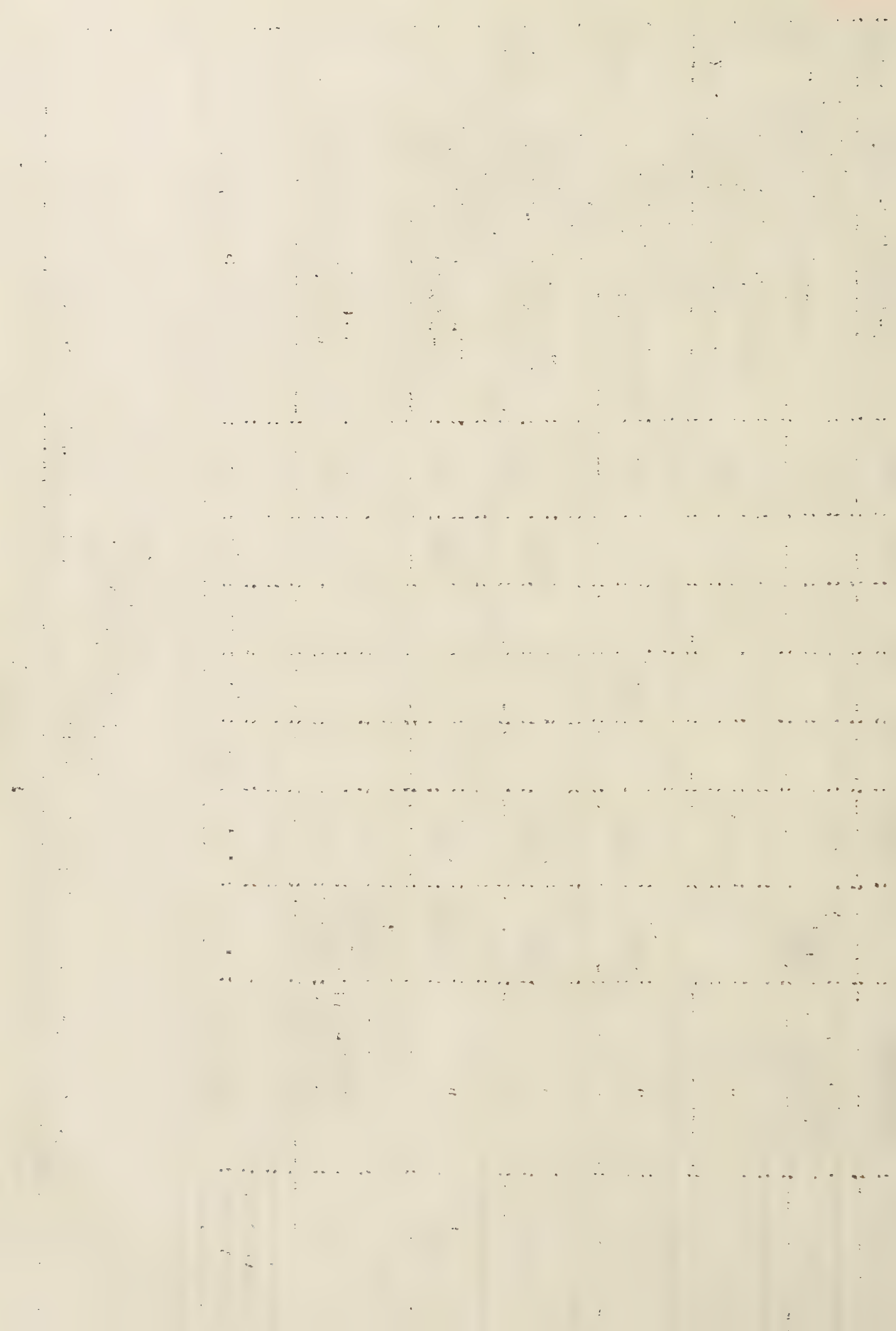
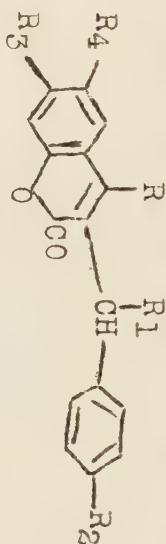


Tableau IV (suite)

XXII - Phényl-3 méthyl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₁₆ H ₁₂ O ₃)	CH ₃	OH		227°	(<u>103</u> <u>16</u>)	Pechmann et Kostanecki	0
XXIII - p-hydroxy-phényl-3 méthyl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₁₆ H ₁₂ O ₄)	CH ₃	OH	OH	301°	(<u>18</u> , <u>41</u>)	Pechmann	
XXIV - Phényl-3 n-propyl-4 méthoxy-7 coumarine (C ₁₈ H ₁₈ O ₃)	nC ₃ H ₇	OCH ₃		142°		Pechmann	0
XXV - p-hydroxy-phényl-3 n-propyl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₁₈ H ₁₆ O ₄)	nC ₃ H ₇	OH	OH	265°	(<u>151</u>)	Pechmann	0

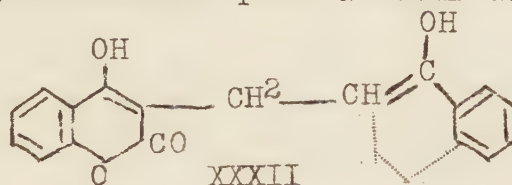
Tableau V

Aryl-méthyl coumarines sur le modèle de la benzyl-3 hydroxy-4 coumarine



N° d'ordre	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	P.F.	Réf.	méthode de synthèse	activité anti-vita- minique K
XXVI - Benzyl-3 hydroxy-4 coumarine (C ₁₆ H ₁₂ O ₃)	CH					205°	(90) (194) (259)	Heilbron-Hill Pauly- Lockmann	++
XXVII - Benzyl-3 hydroxy-4 Benzo-6,7 coumarine (C ₂₀ H ₁₄ O ₃)	OH					203°		condensation thermique malonique	
XXVIII - Benzyl-3 méthyl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₁₇ H ₁₄ O ₃)	CH ₃			OH		235°	(41) (42) (187) (245)	Pechmann	0
XXIX - p-méthoxy-benzyl-3 méthyl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₁₈ H ₁₆ O ₄)	CH ₃		OCH ₃	OH		190°		Pechmann	0
XXX - p-méthoxy-benzyl-3 éthyl-4-hydroxy-7 coumarine (C ₁₉ H ₁₈ O ₄)	C ₂ H ₅		OCH ₃	OH		175°		Pechmann	
XXYI - (phényl-3l-éthyl-3l) méthyl-3 méthyl-4 hydroxy-7 coumarine	CH ₃	C ₂ H ₅		OH		182°		Pechmann	

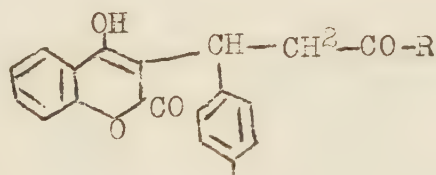
Pour appliquer ce concept à la chimie du dicoumarol, nous avons supprimé le groupement (-O-CO) d'un des noyaux hydroxy-4-coumarines pour aboutir au corps suivant :



(Phényl-3₃-hydroxy-3₃ène 3₂) propyl-3 hydroxy-4 coumarine

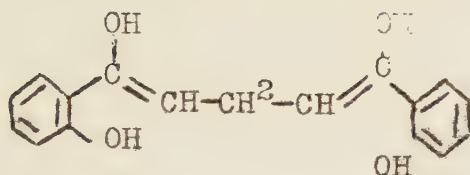
Ce corps extrêmement actif sur la prothrombine (seulement 2 fois moins actif que le dicoumarol méthode de Meunier) est plus proche du dicoumarol que la phényl-3 hydroxy-4 coumarine.

Nous relevons dans les travaux de Link (194) que les corps les plus actifs qu'il ait obtenus après le dicoumarol avaient la structure suivante :



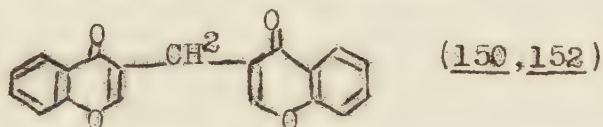
et il émettait la règle de la présence obligatoire d'un groupement cétonique en 5 par rapport à l'OH du noyau coumarine. Ces corps sont donc des "dicoumarol" possédant un cycle potentiel mais, dans tous ces exemples, le méthylène est substitué par un groupement aromatique.

Notre produit à un seul cycle potentiel se rapproche davantage du dicoumarol par la non substitution du méthylène; cependant l'ouverture simultanée des deux noyaux du dicoumarol détruit totalement l'activité et c'est l'exemple du disalicylpropane. Ainsi donc, dans le domaine des cou-

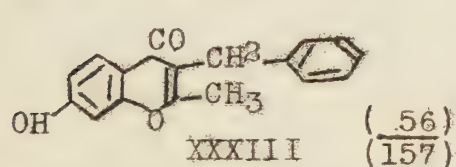


marines asymétriques, si on respecte une certaine forme de molécule, avec obligatoirement un radical en 3 et un hydroxyle en 4, on pourra trouver des corps actifs.

Les chromones : Parmi les corps symétriques à activité hypoprothrombinémiante, Meunier et Mentzer avait trouvé une certaine activité à la dichromone.

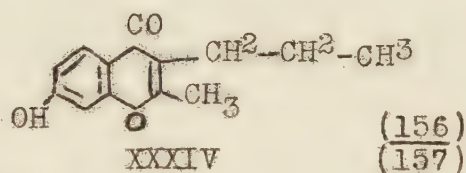


Il était donc intéressant de déterminer si, parmi les dérivés asymétriques, il était possible d'obtenir des corps actifs possédant un hétérocycle γ -pyronique. En collaboration avec Mentzer et Vercier nous avons réussi à réaliser une nouvelle méthode de synthèse des γ -pyrones que nous décrirons dans la partie chimique.

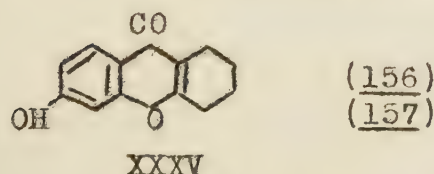


Méthyl-2 benzyl-3
hydroxy-7 chromone F.282

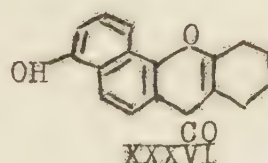
(espace moléculaire voisin
de celui de la benzyl-3
hydroxy-4 coumarine)



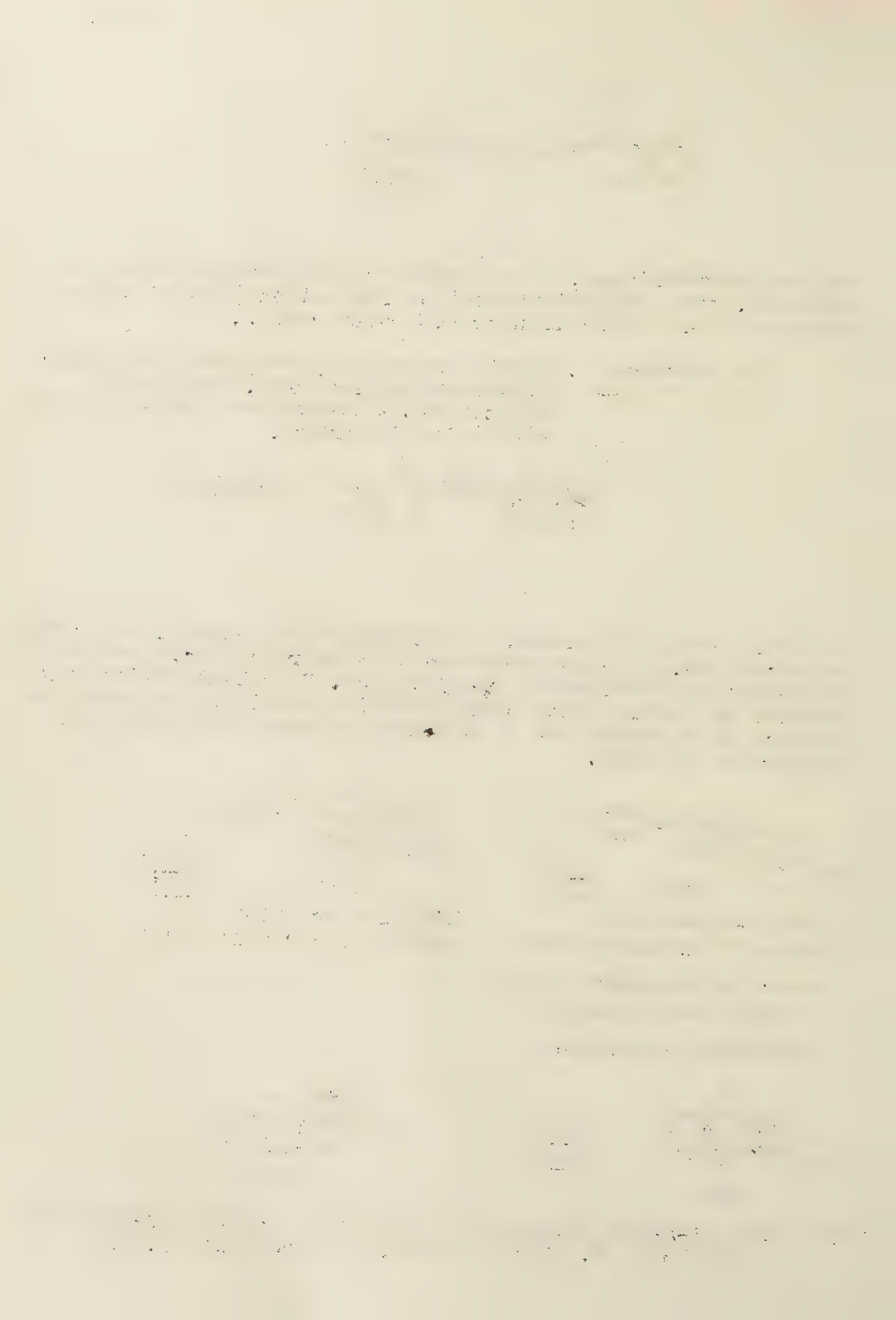
Méthyl-2 propyl-3
hydroxy-7 chromone F.201



Tétra hydro 1-2-3-4 -hydroxy-7
xanthone F. 277°



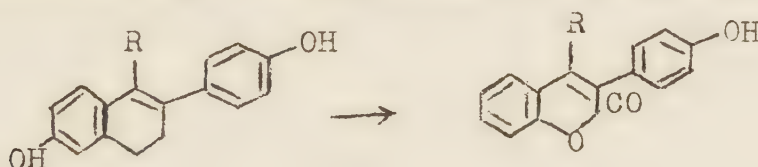
Tétrahydro 1-2-3-4 (O-hydroxy-
benzo)5-6 xanthone F.335°



Malheureusement, notre méthode n'a pas permis l'obtention des chromones non substituées sur le noyau A. Nous ne pouvons donc rien affirmer quant aux possibilités d'activité des chromones asymétriques.

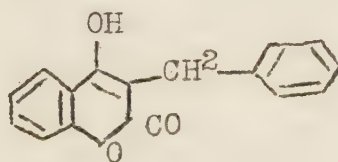
Corps naphthaléniques asymétriques :

Nous venons de voir que, dans la série des hétérocycles, il est possible d'obtenir des corps actifs en respectant certaines règles que nous avons définies. Mais peut-on passer de la série hétérocyclique déterminée par la présence d'un groupement (-O-CO-) à la série naphthalénique où ce groupement (-O-CO-) est remplacé par (CH=CH) ou (CH₂ - CH₂) en conservant les mêmes règles, ou bien ce groupement (-O-CO-) ne conditionne-t-il pas l'activité ? Des recherches effectuées par nous mêmes (151) avec Gley, Mentzer et Billet dans ce sens mais dans un tout autre domaine, celui des oestrogènes, avaient montré la possibilité d'un phénomène inverse : le passage d'une structure naphthalénique à la structure coumarinique correspondante, sans modification de l'activité biologique

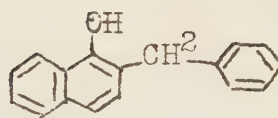
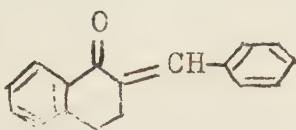
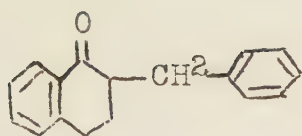


Ce résultat avait prouvé que les groupements (-CH=CH-) et (-O-CO-) étaient interchangeables, sans nuire à l'activité oestrogène. En était-il de même dans le domaine des antivitamines K ?

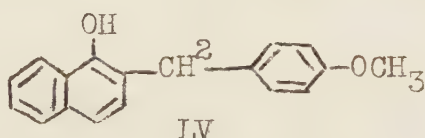
Nous avons choisi la structure benzyl-3-hydroxy-4 coumarine comme modèle pour la synthèse de corps naphthaléniques correspondants, où le seul changement serait le remplacement du groupement -O-CO- par (-CH₂-CH₂-) ou (-CH=CH-).



1°) Dérivés naphthaléniques substitués en 2 par un groupement méthylène ou méthylidène.



Dans ce domaine, une série d'arylméthylidène-2 tétralones-I et d'arylméthyle-2 -tétralones-I dont les caractéristiques se trouvent résumées dans le tableau VI ont été préparées. Ces corps sont inactifs sur la prothrombine. L'introduction de fonctions hydroxyles supplémentaires sous forme d'OH libre ou de méthoxy n'entraîne pas l'apparition de l'activité biologique. De même, un aryl-méthyl - α -naphtol



(p.méthoxy-benzyl) 2 naphtol-1 F.135°

n'a présenté aucune activité.

Ainsi les structures bâties dans la série naphtalénique à l'image de corps actifs du domaine des coumarines ont été inefficaces. Cependant, l'encombrement spatial était comparable et la fonction oxygénée en 4 des coumarines se retrouvait sous forme cétonique ou phénolique

2°) Dérivés naphtaléniques substitués en 2 par un groupement cétonique.

C'est alors qu'en conservant toujours le même espace moléculaire, nous avons remplacé le méthylène par un groupement cétonique introduisant ainsi la modification qui, chez Kabat (II7) avait donné naissance à des corps actifs.

La Benzoyl-2- -tétralone¹, ainsi obtenu, n'a cependant montré aucune anticoagulante action.

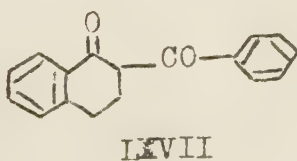
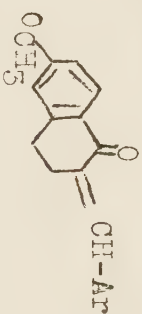
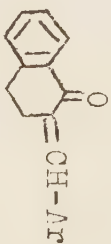


Tableau VI

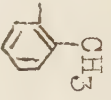
α Tétralones sur le modèle de la benzyl-3 hydroxy-4 coumarine

I - Aryl-méthylidène-2 tétralones - I

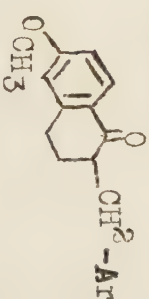
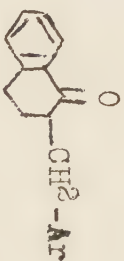


N° d'ordre	Ar	PF.	Méthode de condensation	Réf.	N° d'ordre	Ar.	PF.	Méthode de condensation	Réf.
XXXVII - Benzylidène-2 tétralone-I (C ₁₇ H ₁₄ O)		105°	- à la soude - à 1' (172) - éthylate: (172) - thermique	(228) (172) (172)	XLV - Méthoxy-6 benzylidène-2 tétralone-I (C ₁₈ H ₁₆ O ₂)		100°	- à 1' (230) éthylate	(230)
XXXVIII - 2-méthoxybenzylidène-2 tétralone-I (C ₁₈ H ₁₆ O ₂)		115°	- à la soude - à 1' (172) éthylate: (172) thermique	(172)	XLVI - Méthoxy-6 (p-méthoxybenzylidène)-2 tétralone-I (C ₁₉ H ₁₈ O ₃)		142°	- à 1' éthylate	
XXXIX - o-méthoxybenzylidène-2 tétralone-I (C ₁₈ H ₁₆ O ₂)		110°	- à la soude - à 1' éthylate	(14)	XLVII - Méthoxy-6 (o-hydroxybenzylidène)-2 tétralone-I (C ₁₈ H ₁₆ O ₃)		146°	- à la soude	
XL - o-Hydroxybenzylidène-2 tétralone-I (C ₁₇ H ₁₄ O ₂)		162°	- à la soude		XLVIII - Méthoxy-6 furfurylidène-2 tétralone-I (C ₁₆ H ₁₄ O ₃)		103°	- à 1' éthylate - à la soude	(202)

Tableau VI (suite)

XLI - o-Méthyl- benzylidène-2 tétralone-I (C₁₈H₁₆O)		68° - à 1' éthylate	(228) (172)	XLIX - Méthoxy-6 (thiophène-2')- méthylidène-2 tétralone-I (C₁₆H₁₄O₂S)		110° - à 1' éthylate
XLII - Furfuryl- lidène-2 tétralone-I (C₁₈H₁₆O)		75° - à 1' éthylate	(202) (172)	L - Méthoxy-6 (indolylidène-3)- -2 tétralone-I (C₂₀H₁₇O₂N)		218° - thermique
XLIII - (Propyl- oxy-4'naphtyl- méthylidène-1') -2 tétralone-I (C₂₄H₂₂O₂)		117° - à 1' éthylate	- thermique			
XLIV - (indolyl- lidène-3')-2 tétralone-I (C₁₉H₁₅ON)		215° - thermique				

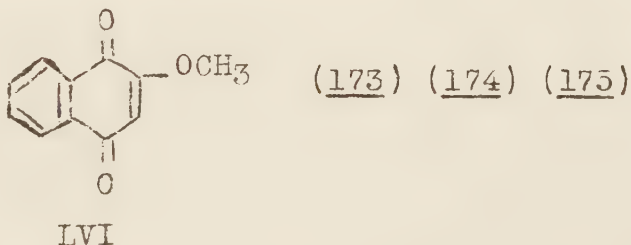
II - Aryl-méthyle-2 tétralone-I



LI - Benzyl-2 tétralone-I		55°	(230)	LII - Méthoxy-6 Benzyl-2 tétralone-I		53°	(230)
LII - p-méthoxy- benzyl-2 tétralone-I		65°		LIV - Méthoxy-6 p-méthoxy- benzyl-2 tétralone-I		107°	

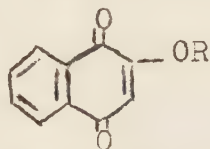
Les naphtoquinones - à la suite de ces résultats négatifs
 ----- il nous a semblé que la recherche
 dans la série naphthalénique de
 corps à l'image des hydroxy-couma-
 rines correspondantes était vouée à l'échec; et que, pour
 obtenir des substances actives dans ce domaine, il fallait
 synthétiser des structures à l'image des vitamines K corres-
 pondantes. Or, la vitamine la plus active dans les avitamins
 K est la Méthyl-2-naphtoquinone-1,4. Pour obtenir une véri-
 table antivitamin K, nous avons pensé à apporter une légère
 modification à cette vitamine tout en conservant le même espa-
 ce moléculaire. En effet, d'après le principe d'analogie structu-
 rale par isostérie, de très légères modifications donnent nais-
 sance soit à des corps de même activité, soit à des corps
 d'activité inverse. Ainsi, le remplacement du groupement -CO
 par le groupement-CS, comme nous l'avons montré avec Mentzer
 (155) n'altère pas l'action phytoinhibitrice du phényl-carba-
 mate d'isopropyle. Il arrive également et c'est le cas du rem-
 placement d'un groupement -CH₃ par Cl que l'activité biologi-
 que soit renversée : dichloro-flavine, antivitamin B2 (Kuhn,
 130) et chloro-naphtoquinone, antivitamin K (Meunier et Coll
 164).

Dans cet ordre d'idées, nous avons remplacé le groupe-
 ment méthyl de la méthyl-2-naphtoquinone-1,4 ou vitamin K3
 par un méthoxyle



La méthoxy-2-naphtoquinone-1,4 ainsi obtenue est active sur
 la prothrombine (173), beaucoup moins cependant que le dicou-
 marol. Nous avons ainsi bâti un hypoprothrombinémiant d'une
 structure très voisine de celle de la vitamin K3 et, qui de
 plus, présente avec cette dernière un antagonisme compétitif.
 Il semble bien dans cet exemple que nous soyons habilités à
 considérer la méthoxy-2-naphtoquinone comme une véritable
 antivitamin K3, au sens le plus précis du terme. Notons au
 passage que c'est la deuxième antivitamin K naturelle : elle
 existe, en effet, dans la nature dans "Balsamina impatiens".
 (139). Dans le cas du dicoumarol à structure coumarinique,
 on n'assiste pas à un antagonisme véritable avec la méthyl-2-
 naphtoquinone (72). Seule, la vitamin K1 naturelle, ou
 méthyle-2 phytyl-3 naphtoquinone 1-4 est capable de renverser
 thérapeutiquement l'action du dicoumarol (190). Ce dernier
 pourrait donc être considéré, comme une antivitamin K1.

I - Alkyloxy-2 naphtoquinones I,4



N° d'ordre	R	P.F.	Réf.	Maxim. spectre U.V. (+) en mμ	Activité anti-vit. K
VI - Méthoxy-2 naphtoquinone-I,4 (C ₁₁ H ₈ O ₃)	CH ₃	184°	(174) (175) (173) (66)	240 280 330	+
VII - Ethoxy-2 naphtoquinone-I,4 (C ₁₂ H ₁₀ O ₃)	C ₂ H ₅	120°	(66)	240,280 330	0
VIII - Propyloxy-2 naphtoquinone-I,4 (C ₁₃ H ₁₂ O ₃)	nC ₃ H ₇	90°	(65)	240,280 330	0
IX - Isopropyloxy-2 naphtoquinone-I,4 (C ₁₃ H ₁₂ O ₃)	LC ₃ H ₇	112°		240,280 330	0

II - Hydroxy-benzoquinone et Hydroxy-naphtoquinones-I,4

N° d'ordre	Formule	P.F.	Réf.	Maxim. spectre UV en mμ	Activité anti-vit. K
X - Hydroxy-2 naphtoquinone-I,4 (C ₁₀ H ₆ O ₃)		195°	(175) (173) (66)	230,270 330,458	0
XI - Dihydroxy-2,5 benzoquinone-I,4 (C ₆ H ₄ O ₄)		déc. 210°	(114)		0
XII - Hydroxy-2 méthoxy-5-naphtoquinone-I,4 méthoxy-juglone (C ₁₁ H ₈ O ₄)		232°			non testé

III- Alkyloxy-naphtoquinones-I,2

XIII - Méthoxy-4 naphtoquinone-I,2 (C ₁₁ H ₈ O ₃)		190°	(66) (173)	250,280 330,400	0
---	--	------	---------------	--------------------	---

(+) maxima de la méthyl-2 naphtoquinone-I,4 (vitamine K₃) :
244, 331, 250 et 263 mμ.

Tableau VIII

α - Tétralones sur le modèle de la
vitamine K₃ - β -dicétones



N° d'ordre

R

P.F.:

Réf.:

Activité

LXIV - Acétyl-2 tétralone-I
(C₁₂H₁₂O₂)

CH₃

56°

(148)

+

LXV - Propionyl-2
tétralone-I
(C₁₃H₁₄O₂)

C₂H₅

54°

0

LXVI - Butyroyl-2 tétralone-I
(C₁₄H₁₆O₂)

C₃H₇

55°

0

LXVII - Benzoyl-2 tétralone-I
(C₁₇H₁₄O₂)

C₆H₅

74°

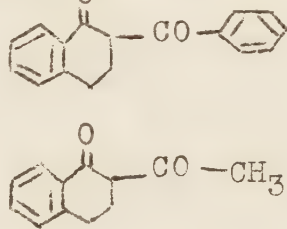
0

(voir tableau VII)

Nous avons préparé ensuite l'éthoxy- et la propoxy-naph-toquinone. Ces substances sont inactives sur la prothrombine. Ce résultat est à rapprocher de ceux obtenus dans le domaine de la méthyl-naphthoquinone : l'éthyl-, la propyl-, la butyl-naph-toquinones n'ont aucune propriété vitaminique K (264). Ainsi, le fait qu'une même modification structurale annule l'activité aussi bien d'une vitamine K que d'une antivitamine K nous confirme dans l'opinion de l'étroite parenté entre les deux structures et dans la possibilité que ces deux molécules prennent la place l'une de l'autre dans les systèmes biologiques.

Par conséquent en série naphthalénique la recherche de structures modelées sur les corps actifs de la série coumarinique a conduit à l'échec, mais, par contre, les analogues de "forme structurale" voisine des vitamines K peuvent-être des agents prothrombopéniques.

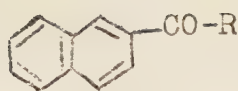
C'est pourquoi nous avons repris la question des tétra-lones substituées du type : Benzoyl tétralone⁶ et, pour nous rapprocher de la structure de la méthyl-2 naphthoquinone, nous avons remplacé le groupement phény-le par un groupement $-CH_3$; préparant de la sorte un homologue de la vitamine K, ayant comme elle deux



fonctions cétones. L'acétyl-tétralone ainsi obtenue est active comme antivitamine K. Fait intéressant, absolument comparable à ce qui se passe dans la série de la méthyl-2 naphthoquinone et celle de la méthoxy-2 naphthoquinone, si nous substituons au méthyl de l'acétyl 2 - tétralone I un autre radical (tableau VIII) aliphatique, éthyle ou propyle, l'activité disparaît à nouveau.

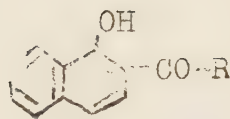
Cependant tous ces modèles d'antivitamines, calqués sur la méthyl-2 naphthoquinone sont relativement peu actifs, la dose minima étant 20 mg. pour l'acétyl-tétralone et 50 mg. pour la méthoxy-naphthoquinone (le dicoumarol agit déjà entre 3 et 5 mg.) Nous remarquons que ces deux types de corps actifs présentent une caractéristique intéressante : c'est la présence de deux groupements cétoniques et l'acétyltétralone pose sède en 2, directement fixé au noyau, un deuxième groupement $-CO-$ Or Kabat (II7) avait déjà signalé la nécessité du groupement $-CO$ directement fixé sur le noyau dans la série des triones qu'il avait préparées.

C'est pourquoi partant de la structure de l'acétyl-tétralone, nous avons préparé une série de corps, caractérisés tous, par la présence du groupement cétonique en chaîne latérale. Nous avons ainsi obtenu :



LXXIII

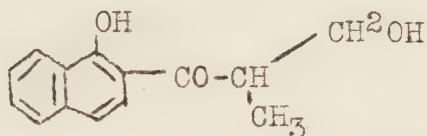
Acétyl-2 naphthalène (51)



LXIX

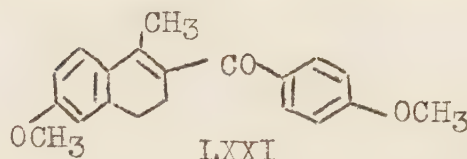
(292) F.98°

Hydroxy-1 acétyl-2 naphthalène



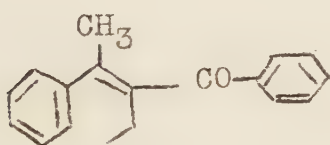
LXX

F.92°

Hydroxy-1(méthyl-2₂-propanol-2₃
one 2₁) 2 naphthalène

LXXI

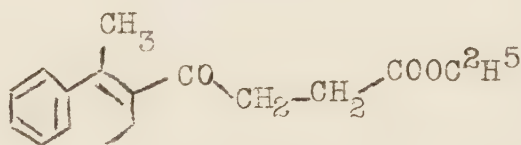
F.130°

p.méthoxy benzoyl 2 méthyl-1
méthoxy-6 dihydro-3-4 naphthalène

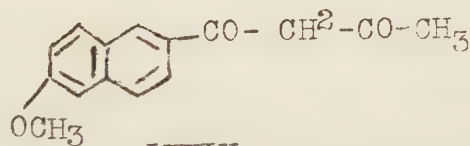
LXXII

E₁₅=210

Phényl-2 benzoyl-3 pentène-2



LXXIII

E₁₅=200°Phényl-6,éthyl-5,heptène-5
one-4, oate d'éthyle

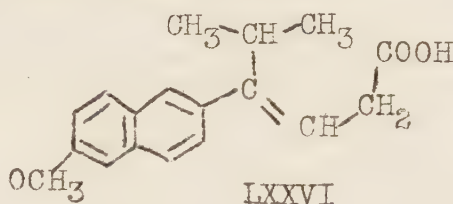
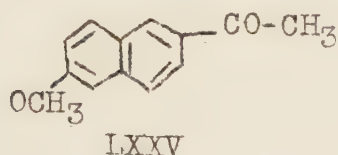
LXXIV

(Butanone-2₃ oyl)₂ méthoxy-6 naphthalène

Le dernier dérivé LXXIV est actif chez le lapin comme hypo-prothrombinémiant à la dose de 20 mg. alors que le corps LXIX, qui se rapproche le plus de l'acétyltétralone est inactif.

Il paraît étonnant que le corps LXXIV, très éloigné à la fois de la vitamine K et du dicoumarol, soit cependant actif sur la prothrombine. De plus, ce dérivé, à l'encontre de la règle qui exige que le noyau A soit nu, possède un substituant sur ce noyau. Pour comprendre son activité, il nous fallait donc admettre que celle-ci était imputable aux groupements fonctionnels caractéristiques qu'il renfermait.

C'est pourquoi nous avons préparé une série de dérivés tous substitués de la même façon sur le noyau A pour essayer de délimiter les seules fonctions responsables de l'activité. Parmi les corps suivants essayés dans ce sens,

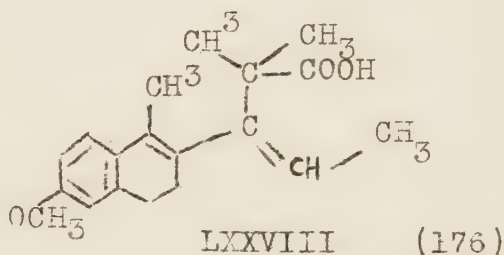
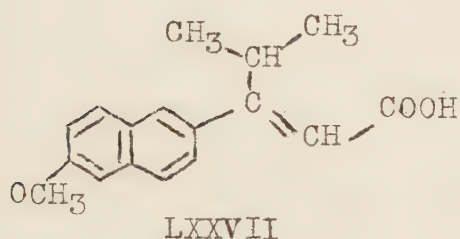


Méthoxy-6 acétyl-2

naphtalène F.105° (89)

Méthyl-5 (méthoxy-6' naphtyl)

4 hexène-3 oïque



Méthyl-4 (méthoxy-6' naphtyl)
-3 pentène-2 oïque

Diméthyl-2-2(méthyl-1'dihydro
méthoxy-6' naphtyl)-3 pentène
-3 oïque

LXXV et LXXVII se sont montrés inactifs comme anticoagulants. Nous avons donc été amenés à conclure à la nécessité de la fonction dicétonique, (laquelle permet une intense énolisation) pour toute action hypoprothrombinémiante. Il est intéressant de noter que, dans la série de la tétralone aussi bien que dans celle du naphtalène, les anticoagulants trouvés sont : l'acétyl-tétralone et le corps LXXIV, qui tous deux sont des β -dicétones capables d'énolisation. Mais les activités biologiques sont faibles; nous avons cherché à les exalter en préparant d'autres dicétones capables de s'énoliser et dont l'espace moléculaire soit celui d'une des coumarines actives déjà connues. Nous avons choisi comme modèle la phényl-3-hydroxy-4 coumarine. L'une des β -dicétones qui s'en rapproche le plus est la phényl-2-indanédione-1,3 ou P.I.D. :



Ce dérivé s'est montré d'emblée extrêmement actif comme hypoprothrombinémiant chez le lapin et son utilisation thérapeutique chez l'homme est entrée dans la pratique.

Le P.I.D., à dose égale, est plus actif que le Dicoumarinyl acétate d'éthyle (voir partie biologique). Berkelund (26) l'a même trouvé plus actif que le dicoumarol. /par la suite

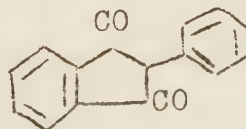
Ainsi donc une étude en fonction de l'analogie structurale à l'égard du dicoumarol d'une part et de la vitamine K d'autre part nous a conduit à la synthèse d'un anticoagulant très puissant, immédiatement utilisable en thérapeutique.

Le P.I.D., s'il occupe un espace moléculaire l'apparentant aux coumarines actives, possède également deux groupements cétoniques ce qui ^{le} rapproche de la structure des vitamines K. Mais agit-il in vivo comparablement à la méthoxy-2-naphtoquinone, c'est à dire se comporte-t-il comme une véritable antivitamine K3 ou bien agit-il comme le dicoumarol c'est à dire vis à vis de la vitamine K1 ? L'étude expérimentale du P.I.D. sur les divers facteurs de la coagulation, entreprise in vivo et in vitro chez le lapin et chez l'homme a montré, comme nous le décrirons dans la partie biologique, que celui-ci agissait exactement comme le dicoumarol, spécifiquement sur la prothrombine et que seule la vitamine K1 permet un renversement d'action (26). Ces deux antivitamines K possèdent d'ailleurs des activités secondaires comparables sur la perméabilité capillaire et sur la fonction oestrogène. Nous le verrons dans le prochain chapitre.

Enfin, nous avons voulu apporter à la structure du P.I.D. des modifications successives pour déterminer de façon cohérente quelles étaient les caractéristiques moléculaires responsables du pouvoir hypoprothrombinémiant et pour vérifier notre hypothèse première de la nécessité de l'énolisation.

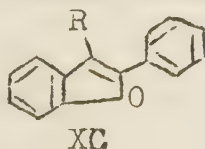
C'est ainsi que nous avons synthétisé une série de structures chimiques apparentées, nous laissant guider par les notions suivantes :

1°) Respect de la forme de la molécule du P.I.D., les seules modifications portant sur les groupements fonctionnels.



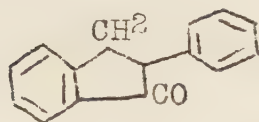
Les changements suivants ont tous donné naissance à des corps inactifs :

a - suppression des deux fonctions cétoniques et conservation des trois cycles caractéristiques : coumarones du type :



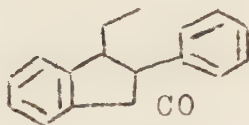
Alkyl-1 phényl-2 coumarone

b - Suppression d'un seul des deux groupements cétoniques présents :



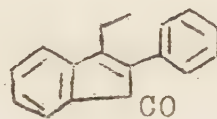
LXX (29)

Phényl-2 indanone 1



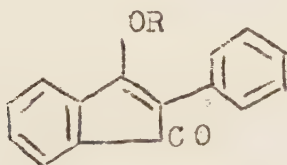
LXXXI

Phényl-2 éthyl-3 indanone-1



LXXXII (73)

Phényl-2 éthyl-3 indène-2 one 1



LXXXIII

R = CO-CH₃

LXXXIV

R = CO-C²H⁵

LXXXV

R = CO-C⁶H⁵

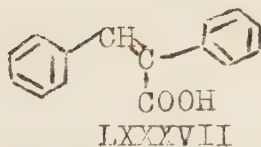
Phényl-2 (alcoyl ou aroyl)hydroxy-3

indène 2 one 1

LXXXVI

R = CO-C⁶H⁴OCH₃

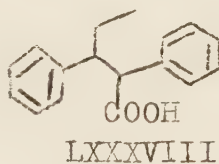
c - Préparation de corps ouverts à cycles potentiels, dérivant des précédents et sans fonction cétonique :



(191)

LXXXVII

Acide α Phényl cinnamique

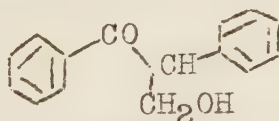


LXXXVIII

(127)

AC.α-β diphényl valériannique

d - Préparation de corps ouverts à cycle potentiels dérivant des précédents, une des deux fonctions cétoniques étant conservée.

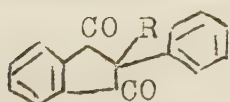


(211)

LXXXIX

meso méthylol desoxybenzoïne

2°) Respect de la forme de la molécule du P.I.D. et de la fonction dicétonique avec empêchement de la seule énolisation

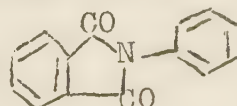


XCI

R = CH₃

XCLI

R = CH²COOC²H⁵



XCIII

(229 bis)

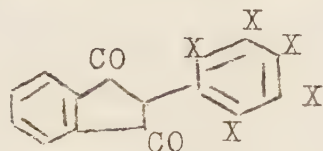
Phényl-2 alkyl-2 indane-dione 1-3

(186)

N phényl phthalimide

Les corps ainsi obtenus sont inactifs in vivo.

3°) Respect de la forme de la molécule du P.I.D., de la fonction dicétonique, et de l'énolisation avec introduction de quelques substituants supplémentaires.

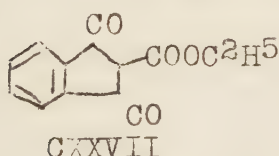


(Voir Tableau IX)

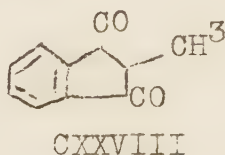
Aryl-2 indane diones 1-3

Les aryl-2 indanediones-I,3 obtenues sont toutes plus ou moins actives en tant qu'agents hypoprothombinémiants. L'étude comparative systématique effectuée chez le rat montre une exaltation de l'activité dans le cas de l' α -naphthyl-2 indanedione-I,3.

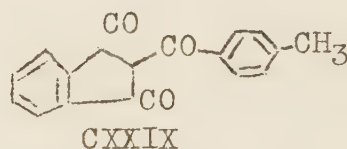
4°) Respect de la fonction dicétonique et de l'énolisation dans la formule du P.I.D. mais modification radicale de la forme de la molécule.



Carboxéthyle-2 indane dione 1-3 (117-120)



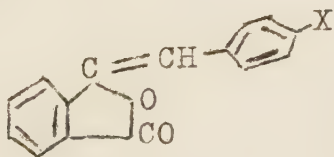
Méthyl-2 indane dione 1-3 (290)



(p.toluy1)2 indane dione 1-3

Les substances obtenues sont alors inactives in vivo.

5°) Suppression de la fonction dicétonique, de l'énolisation et de la forme du P.I.D., les dérivés obtenus étant des isomères et des précurseurs des aryl-indanediones.

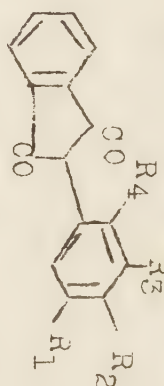


(Voir Tableau IX)

Tous les arylidènes phthalides essayés sont inactifs in vivo.

Tableau IX

Arvyl-2 indanediones-1,3



N° d'ordre	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	P.F.	Réf.	Max : spectre : U.V. (mμ)	Activité anti-K
LXXIX - Phényl-2 indanedione-1,3 (C ₁₅ H ₁₀ O ₂)	H	H	H	H	(+) 145°	(186) (56) (285) (135)	280-330 460	+++
XCIV - Méthyl-4' phényl-2 indanedione-1,3 (C ₁₆ H ₁₂ O ₂)	H	CH ₃	H	H	(+) 140°			+++
XCV - Chloro-4' phényl-2 indanedione-1,3 (C ₁₅ H ₉ O ₂ Cl)	H	Cl	H	H	(+) 147°		280-290 335	++++
XCVI - Méthoxy-4' phényl-2 indanedione-1,3 (C ₁₆ H ₁₂ O ₃)	H	OCH ₃	H	H	(+) 152°	(135)	280-330	+++
XCVII - Méthoxy-2' phényl-2 indanedione-1,3 (C ₁₆ H ₁₂ O ₃)	H	H	H	OCH ₃	(+) 167°		254-280 330	+++
XCVIII - Méthoxy-3' phényl-2 indanedione-1,3 (C ₁₆ H ₁₂ O ₃)	H	H	OCH ₃	H	147- 148°		280-336	+++
XCIX - Diméthoxy-4',3' phényl-2 indanedione-1,3 (C ₁₇ H ₁₄ O ₄)	H	OCH ₃	OCH ₃	H	191°	(73)	280-336	+++
C - Diméthoxy-4',2' phényl-2 indanedione-1,3 (C ₁₇ H ₁₄ O ₄)	H	OCH ₃	H	OCH ₃	186°			+++

Tableau IX (suite)

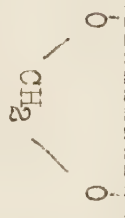
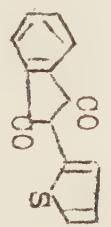
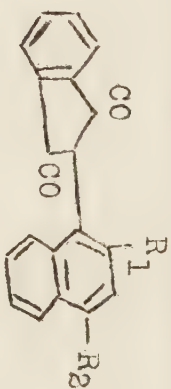
CI - Méthylène-dioxy-4', 3' phényl-2 indanedione-I, 3 (C ₁₆ H ₁₀ O ₄)	H		H	I59°	+++
CII - (Méthoxy-4' méthyl-2') phényl-2 indanedione-I, 3 (C ₁₇ H ₁₄ O ₃)		OCH ₃	CH ₃	(++) I60°	+++
CIII - (Méthoxy-2' bromo-5') phényl-2 indanedione-I, 3 (C ₁₆ H ₁₁ O ₃ Br)	Br	H	H OCH ₃	(++) I62°	+
CIV - (Triméthoxy-3', 4', 5') phényl-2 indanedione-I, 3 (C ₁₈ H ₁₆ O ₅)	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	(+) I83°	+++
CV - (Thiényl-2')-2 indanedione-I, 3 (C ₁₉ H ₈ O ₃ S)	<u>Formule développée</u> 			(+) I46- I47°	instable

Tableau IX (suite)



N° D'ordre	R ₁	R ₂	P.F.	Réf.	Max. : spectre : U.V. (mμ)	Activité anti K
CVI - (naphtyl-1')-2 indanedione-I,3 (C ₁₉ H ₁₂ O ₂)	H	H	(++) 214°		255-333 : non testé 445 (°)	
CVII - (Méthoxy-2' naphtyl-1')-2 indanedione-I,3 (C ₂₀ H ₁₄ O ₃)	OCH ₃	H	(++) 193°			non testé
CVIII - (méthoxy-4' naphtyl-1') -2 indanedione-I,3 (C ₂₀ H ₁₄ O ₃)	H	OCH ₃	(++) 230°			non testé
CVI bis-(naphtyl-2') 2 indanedione I,3 (C ₁₉ H ₁₂ O ₂)			(++) 180°		275-340 : 465	non testé
CIX - (propyloxy-4' naphtyl-1') -2 indanedione-I,3 (C ₂₂ H ₁₈ O ₃)	H	OC ₃ H ₇	(++) 160°			
CX - Phénoxy-2 indanedione-I,3 (C ₁₅ H ₁₀ O ₃)	formule développée		(+) 125°		instable	0

(°) Les corps de cette série "non testés" chez le lapin ont par contre été étudiés comparative-
ment chez le rat (voir plus loin) et se sont révélés actifs.

Tableau IX (suite)

Aryl méthylidène-phthalides (isomères des aryl-indanediènes)

N° d'ordre	Formule développée	R	P.F.	Réf.	Max. : spectre : UV (mμ)	Activité anti-K
CXI - Benzal phtalide (C ₁₅ H ₁₀ O ₂)		H	(+) 99°	(79)		0
CXII - p-méthyl-benzal-phtalide (C ₁₆ H ₁₂ O ₂)		CH ₃	(+) 151°	(235)		
CXIII - p-méthoxy-benzal-phtalide (C ₁₆ H ₁₂ O ₂)		OCH ₃	(+) 150°			
CXIV - Phénoxy-méthylidène phtalide (C ₁₅ H ₁₀ O ₃)		H	(+) 142°	(78)		
CXV - (p-méthoxy-phényl)-oxy-méthylidène phtalide (C ₁₆ H ₁₂ O ₄)		OCH ₃	(+) 150°			
CXVI - α-Naphtylidène-phtalide (C ₁₉ H ₁₂ O ₂)			(+) 165°			
(CXVI bis)-β-Naphtylidène phtalide (C ₁₉ H ₁₂ O ₂)			(+) 175°			
CXVII - (α-thiénylidène)-5-nitrophthalide (C ₁₃ H ₇ O ₄ SN)			(++) 227°			

(+)
(++) recrystallisés dans l'alcool
" " l'acide acétique

- CONCLUSIONS

Il apparaît, à la suite de cette étude, que la première des conditions nécessaires à l'activité hypoprothrombinémiante est la présence d'une fonction dicétonique, avec possibilité d'énolisation, donnant lieu à une tautomérie céto-énolique.

A ce propos, il est bon de signaler que c'est la possibilité d'existence de formes tautomères qui est à la base de l'activité et non pas une forme tautomère donnée.

Ainsi, dans la molécule de P.I.D., la forme énolique fixée à l'aide d'un groupement acétyle, de même que la forme cétonique vraie fixée par un substituant en 2 sont inactives :



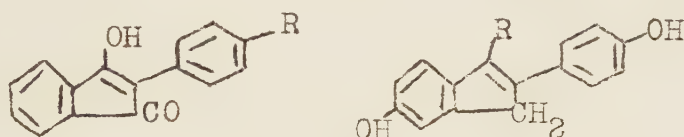
Cette condition de la possibilité de tautomérie céto-énolique n'est cependant pas suffisante; il est nécessaire de conserver à la molécule une certaine forme. Cette dernière condition est cependant beaucoup plus souple que la précédente; comme nous l'avons montré, un assez grand nombre de structures sont compatibles avec l'activité mais, dans tous les cas, la tautomérie céto-énolique existe.

- Deuxième Partie -

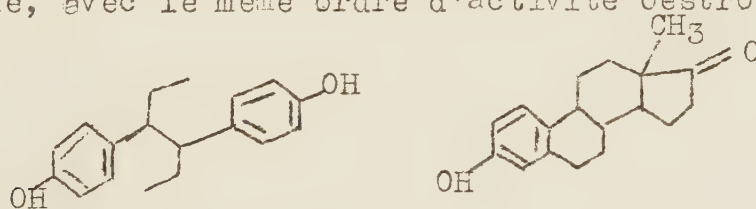
- ANALOGIE STRUCTURALE ET ACTION OESTROGENE EN RELATION AVEC

L'ACTIVITE HYPOPROTHROMBINEMIANTE -

La structure du Phényl-indane-dione (P.I.D.), hypoprothrombinémiant, rappelle beaucoup la structure de nombreux aryl-indènes reconnus déjà dans la littérature comme étant de puissants oestrogènes (236)-(252).



La seule différence structurale entre ces deux classes de dérivés, actives chacune dans un processus biologique complètement dissemblable a trait à la disposition dans l'espace des deux fonctions oxygénées. Rappelons à ce propos que, dans le domaine des oestrogènes, la fonction phénolique et la fonction cétonique sont interchangeable et qu'on peut les envisager comme des fonctions oxygénées. En effet, l'hexoestrol (38), entièrement phénolique, est considéré comme un analogue structural de la folliculine cétonique, avec le même ordre d'activité oestrogène.



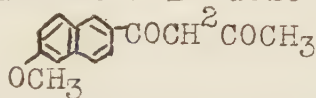
Les aryl-indènes et en général tous les oestrogènes connus possèdent les deux groupements oxygénés aux deux extrémités de la molécule alors que dans le P.I.D., les deux fonctions oxygénées ont été ramenées au centre. (x)

(x) - Tous les essais oestrogènes ont été effectués dans les Services du Professeur GLEY que nous remercions tout particulièrement ici.

Il était tentant de déterminer si le P.I.D. ne présentait pas l'activité des corps oestrogènes dont sa structure le rapprochait. L'essai effectué chez la rate castrée révéla une notable activité, de l'ordre du mg. (Le P.I.D. utilisé aux doses thérapeutiques chez l'homme, n'a jamais révélé d'action oestrogène, parallèlement à l'activité hypoprothrombinémiante. Le seuil d'activité anti K est en effet beaucoup plus bas que le seuil d'activité oestrogène). Nous nous trouvons donc en présence d'un corps capable de manifester les deux activités : oestrogène et hypoprothrombinémiante.

Nous nous sommes demandés si ces deux phénomènes n'étaient pas liés et si la fonction hypoprothrombinémiante ne conditionnait pas la fonction oestrogène. C'est pourquoi nous avons recherché si le dicoumarol n'était pas également oestrogène. Effectivement, il est actif chez la rate castrée à la dose de 10 mg. De plus le corps

LXXIV

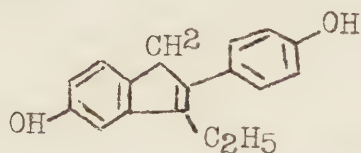


légèrement hypoprothrombinémiant,

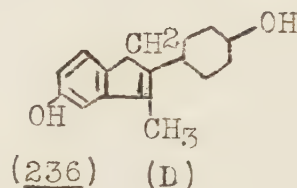
est également actif comme oestrogène à la dose du mg. chez la rate castrée. Les deux phénomènes biologiques semblent dès lors liés et ce résultat nous confirme dans l'opinion que le P.I.D., de nature indanique, et le dicoumarol, de nature coumarinique, aussi actifs l'un que l'autre en tant qu'abaisseurs de prothrombine, agissent bien dans la cellule vivante par le même mécanisme. Signalons incidemment que, des auteurs italiens ont (265)-(270) remarqué l'action oestrogène de la vitamine K₃ (2-méthyl-nq.). Or, nous avons déjà déterminé pour le P.I.D. et le dicoumarol les fonctions chimiques et la forme de la molécule nécessaires à l'activité antivitaminique K. Ces fonctions et ces formes sont-elles les mêmes qui conditionnent l'activité oestrogène ? Si oui, un oestrogène quelconque devrait être hypoprothrombinémiant. L'expérience effectuée avec le dioénestrol (57) nous a montré que ce dernier dérivé n'avait aucune action sur la prothrombine. Par conséquent le P.I.D. et le dicoumarol possèdent spécifiquement des fonctions communes aux activités antivitaminique K et oestrogène, et il devrait être possible de dissocier ces activités. On pourrait ainsi obtenir des corps uniquement antivitaminiques K ou uniquement oestrogènes et, par voie de conséquence, on aurait défini dans les structures, par nous étudiées, les groupements fonctionnels responsables de chacune des activités.

Pour élucider ce problème, nous avons en premier lieu apporté au P.I.D. de nombreuses modifications structurales afin de déterminer à quel moment disparaissait l'activité oestrogène. Nous avons donné le passage du P.I.D. à chacune des deux formes actives comme oestrogènes : aryl-indène et dihydrostilbène, par une série d'analogues structuraux que nous réunissons dans les deux tableaux suivants.

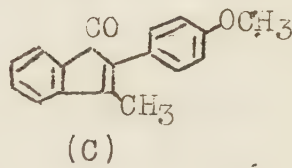
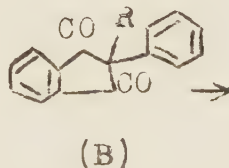
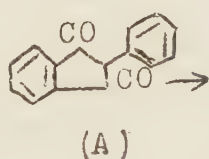
I^o) Le P.I.D. est oestrogène parce qu'il est l'analogue structural de l'Ethyl-Ip: hydroxy-phényl-2, hydroxy-6-indène (236) - (252) :



activité
oestrogène de
l'ordre du γ

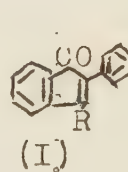
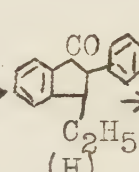
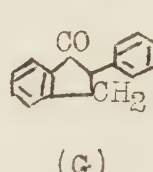
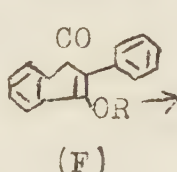
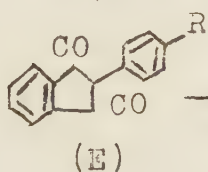


activité
oestrogène
de l'ordre
du mg.



CXX

activité
oestrogène
nulle



LXXX

LXXXI

- Tableau A -

les corps essayés sont les suivants quand R varie :

type (B) : R = CH₃ (XCI), R = COO-C₂H₅ (XCII)

type (E) : R = O-CH₃ en para (XCVI), R = O-CH₃ en ortho (XCVII)
R = Cl en para (XCV)

type (F) : R = CO-CH₃ (LXXXIII), R = CO-C₂H₅ (LXXXIV),
R = CO-C₆H₅ (LXXXV)

type (I) : R = CO-C₆H₄-OCH₃ (LXXXVI)

R = CH₃ (CXVIII), C₁₆H₁₂O F 68° phényl-2-méthyl-3-indène-2-3-one I (73)

R = C₆H₅ (CXIX), C₂₁H₁₄O diphényl-2-3, indène-2-3 one I F 152° (73)

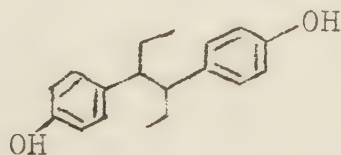
Il ressort de ce tableau (A) que le P.I.D. est actif comme oestrogène en raison de la présence de deux fonctions oxygénées situées en méso dans la molécule alors que, dans les analogues structuraux dont il est l'image, les deux fonctions sont en amphi.

Les conclusions suivantes peuvent être formulées à ce sujet :

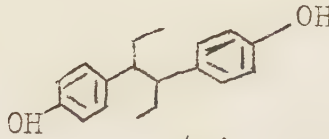
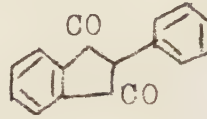
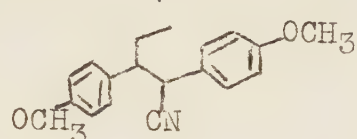
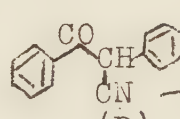
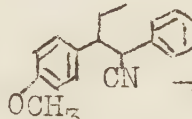
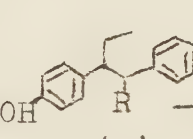
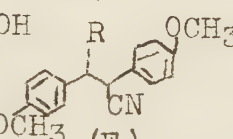
- a) Toute substitution du noyau en position 2 sur la dione détruit l'activité oestrogène (Corps E).
- b) La fixation de la molécule sous forme énolique, comme dans les corps F annihile l'activité.
- c) L'empêchement de toute énoilisation par la présence d'un substituant en 2 sur le noyau indane (les corps B) conserve l'activité oestrogène.
- d) La présence d'une seule fonction oxygénée (corps (G) (H) (J) est incompatible avec l'activité.
- e) Le déplacement d'une des fonctions oxygénées en méso et sa fixation sur le noyau en position 2 sur la dione redonnent un produit actif. Dans ce cas, l'énoilisation n'est pas possible (corps (C)).
- f) Le déplacement des deux fonctions oxygénées en amphi sur la molécule donne naissance à des corps présentant l'activité maximum (corps (D)).

En résumé, dans le cadre des systèmes étudiés, l'activité oestrogène du P.I.D. est imputable à la présence des deux fonctions oxygénées situées en méso et c'est la forme cétonique vraie qui est seule active à l'encontre de la structure énolique.

2°) Le P.I.D. est oestrogène parce qu'il est l'analogue structural de l'héxoestrol à "cycles potentiels".



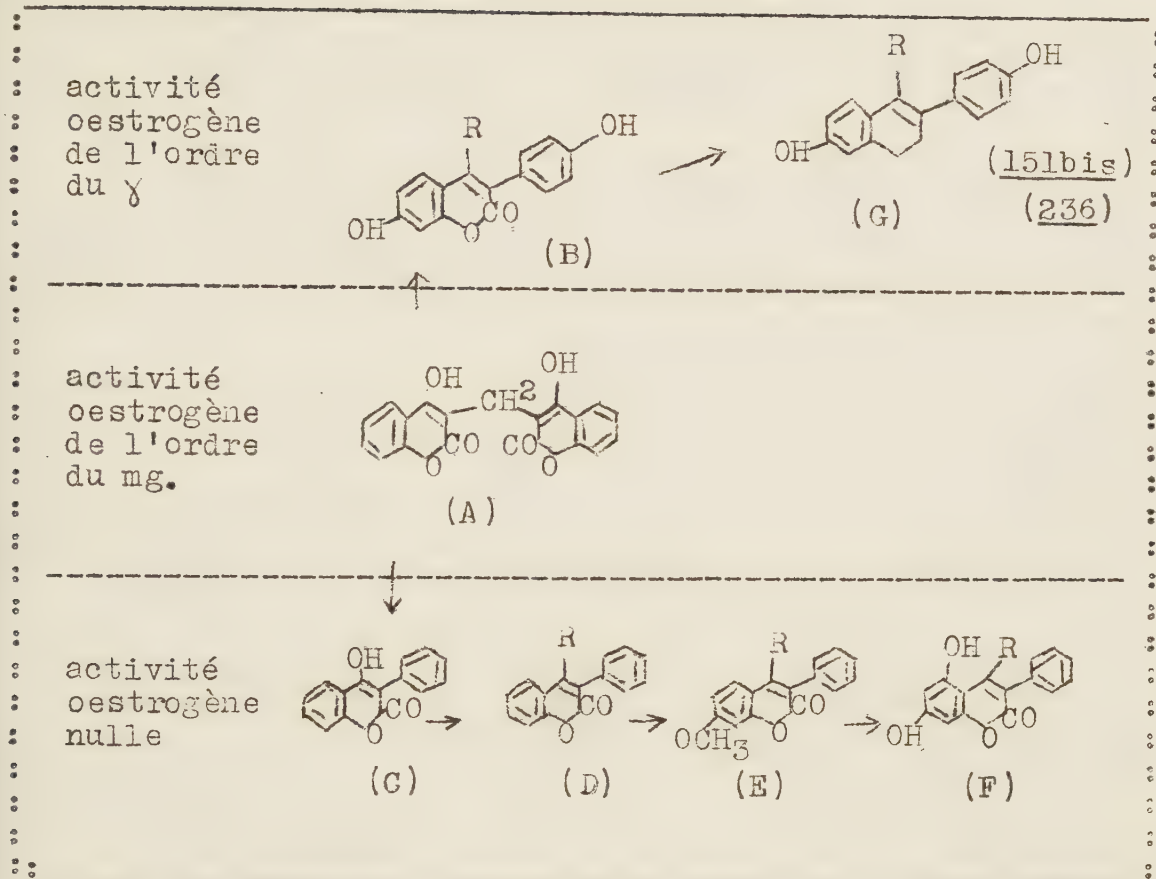
Hexoestrol ou 1-2 diéthyl di p-p'hydroxy di hydrostil-bène

activité oestrogène de l'ordre du γ	 (G)
activité oestrogène de l'ordre du mg.	 (A)  (F) CXXVI
activité oestrogène nulle	 (B)  (C)  (D)  (E) CXXI F. 98° (104) CXXII CXXIII R=COOH CXXIV R=CONH₂ CXXV R=C³H₇

- Tableau B -

Le tableau B nous permet également de constater que le P.I.D. n'est actif que par la présence des deux groupements cétoniques. En effet, l'ouverture du cycle indanique et la suppression d'une fonction oxygénée (B, C) enlève également l'activité, par contre, la réapparition des deux fonctions oxygénées en amphi redonne des corps actifs (F et G). Il est intéressant de noter que la présence d'une troisième fonction oxygénée (D), sous forme de $-COCH$ ou de $CO-NH_2$, annule l'activité. Enfin, le corps (E) avec un radical R plus grand que C_2H_5 , est également **inactif**.

Nous avons en deuxième lieu cherché dans le domaine des coumarines antivitaminiques K les groupements responsables de l'activité oestrogène du dicoumarol. Nos résultats sont rapportés dans le tableau suivant C (voir également Tableau I).



- Tableau C -

Nous relevons là encore que la condition indispensable à l'activité oestrogène est la présence de deux fonctions oxygénées : cette condition est remplie par le dicoumarol et par les coumarines du type (B). A noter que le groupement (O-CO) n'exerce aucune "action polaire" dans ce cas, mais agit uniquement parce qu'il occupe un emplacement donné dans la molécule, c'est à dire pour des raisons purement spatiales (151).

La phényl-3-hydroxy-4-coumarine, (C) cependant hypoprothrombinémienne, n'est pas oestrogène : elle ne renferme qu'une fonction oxygénée.

Cependant la présence des deux fonctions oxygénées n'est pas suffisante : encore faut-il que les 2 OH ne soient pas sur le même noyau. Le corps (F) par exemple est inactif (voir aussi tableau X).

La nature du radical R (B) influe sur l'activité. Pour R = CH₃ ou C₄H₉ les corps sont inactifs, alors que pour R = C₂H₅ ou C³H₇ ils sont actifs. La présence d'un OH supplémentaire dans la molécule supprime également l'activité (voir tableau X).

Dans le cas du dicoumarol comme dans celui du P.I.D., les 2 fonctions oxygénées symétriques à l'intérieur de la molécule sont donc responsables de l'activité oestrogène.

Nous allons résumer sur un même tableau quelles modifications structurales apportées au P.I.D. et au dicoumarol, à la fois oestrogènes et antivitaminiques K, ont permis la dissociation des deux activités.

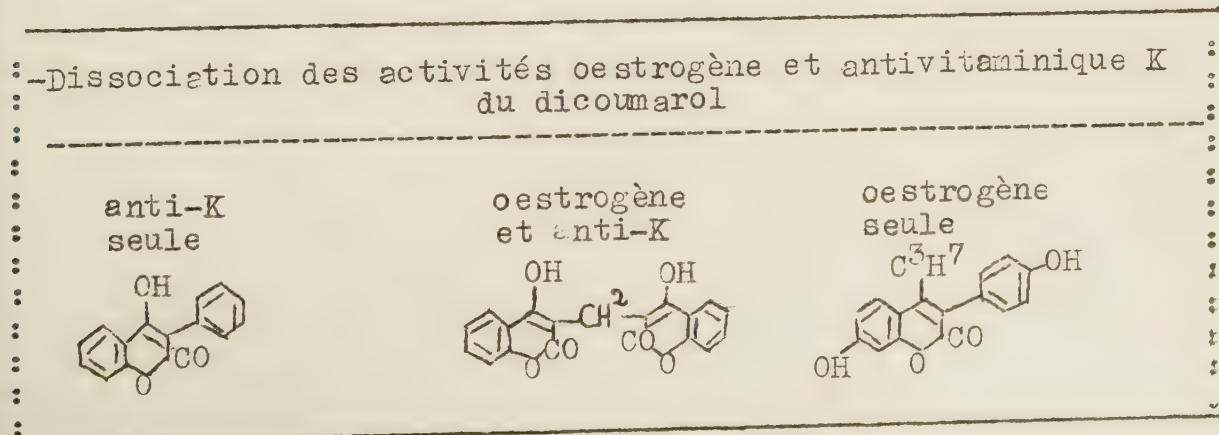
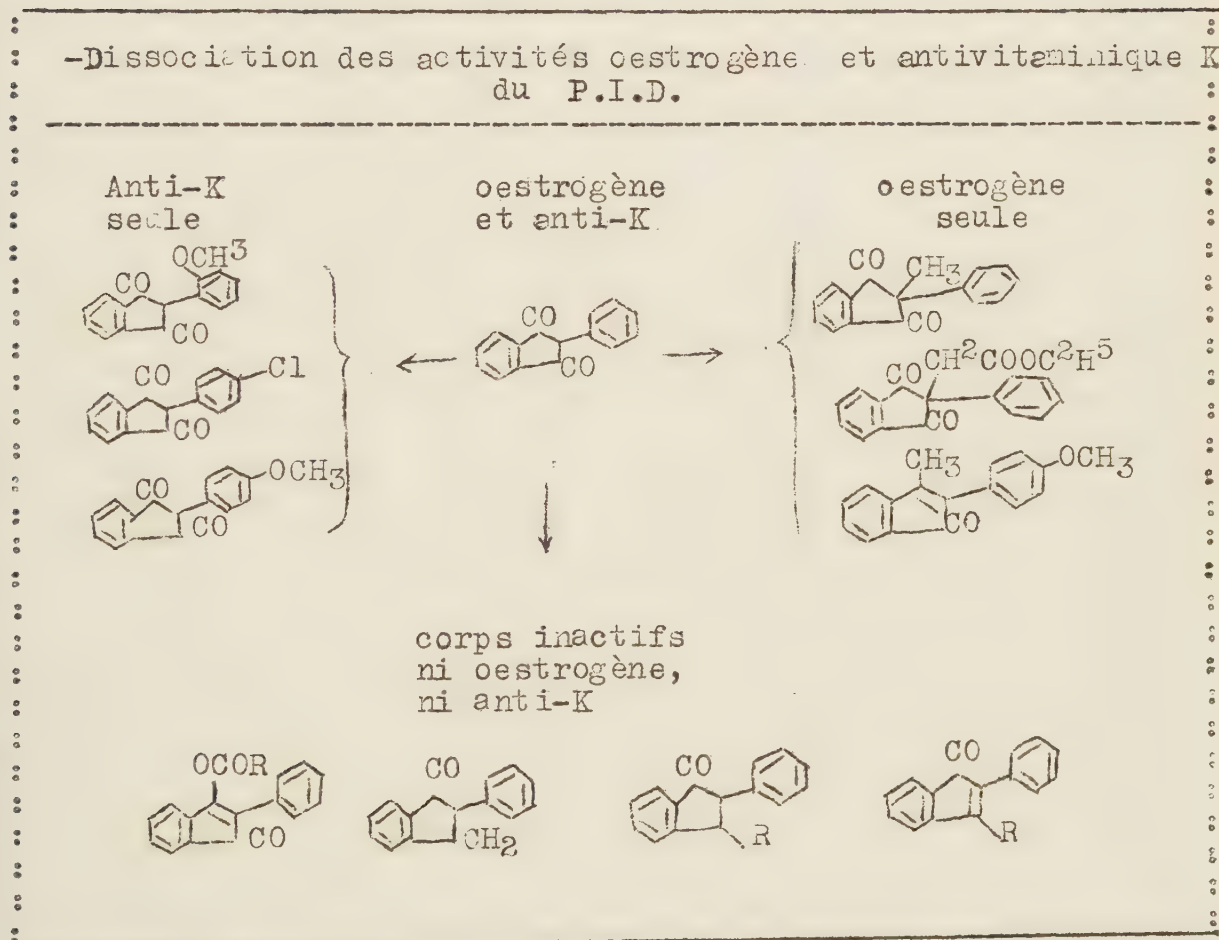
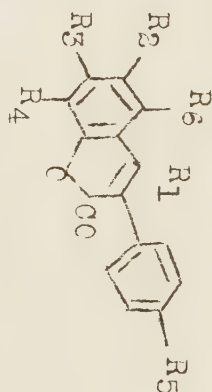


Tableau X

4-ryl-3 coumarines et activité œstrogène



N° d'ordre	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	P.F.	Réf.	Activité œstro- gène
XXV - Phényl-3 hydroxy-4 coumarine (C ₁₅ H ₁₀ O ₃)	OH							(194) (165) (267) (154)	0
XXX - Phényl-3 diméthyl-4,7 coumarine (C ₁₇ H ₁₄ O ₂)	CH ₃		CH ₃				III°		0
XXI - Phényl-3 méthyl-4 bromo-6 coumarine (C ₁₆ H ₁₁ O ₂ Br)	CH ₃	Br					III°		0
XXXI - Phényl-3 méthyl-4 méthoxy-7 coumarine (C ₁₇ H ₁₄ O ₃)	CH ₃		O-CH ₃				III°	(103) (16)	0
XXXII - Phényl-3 méthyl-4 dihydroxy-5,7 coumarine (C ₁₆ H ₁₂ O ₄)	CH ₃		OH			OH	III°		0
XXIII - p-hydroxy-phényl-3 méthyl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₁₆ H ₁₂ O ₄)	CH ₃		OH		OH		III°		0

Tableau X (suite)

XXII - Phényl-5 méthyl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₁₆ H ₁₂ O ₃)	CH ₃	OH		227°	(103) (116) (18) (41)	0
CXXXIII - p-méthoxy-phényl-3 méthyl-4 hydroxy-6 coumarine (C ₁₇ H ₁₄ O ₄)	CH ₃	OH	OCH ₃	232°	(151)	0
CXXXIV - Phényl-5 éthyl-4 méthoxy-7 coumarine (C ₁₈ H ₁₆ O ₃)	C ₂ H ₅	OCH ₃		255°	(91)	0
CXXXV - p-méthoxy-phényl-3 éthyl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₁₈ H ₁₆ O ₄)	C ₂ H ₅	OH	OCH ₃	215°	(151)	++
CXXXVI - p-méthoxy-phényl-3 éthyl-4 méthoxy-7 coumarine (C ₁₉ H ₁₈ O ₄)	C ₂ H ₅	OCH ₃	OCH ₃	146°	(151)	+
XXIV - Phényl-3 n-propyl-4 méthoxy-7 coumarine (C ₁₈ H ₁₈ O ₃)	nC ₃ H ₇	OCH ₃		142°		0
CXXXVII - Phényl-3 n-propyl-4 hydroxy-méthylène carbonate d'éthyle-7 coumarine (C ₂₂ H ₂₂ O ₅)	C ₃ H ₇	OCF ₂ - COCOC ₂ H ₅		115°		0
CXXXVIII - Phényl-5 n-propyl- 4 (acide hydroxy-méthylène- carbonique)-7 coumarine (C ₂₀ H ₁₈ O ₅)	C ₃ H ₇	OCH ₂ COOH		178°		0

Tableau X (suite)

CXXXIX - Phényl-3 n-propyl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₁₈ H ₁₆ O ₃)	C ₃ H ₇	OH				242°	0
CXL - p-méthoxy-phényl-3 n-propyl-4 méthyl-5 hydroxy-7 coumarine (C ₂₀ H ₂₀ O ₄)	C ₃ H ₇	OH			CH ₃	287°	0
CXLI - p-méthoxy-phényl-3 n-propyl-4 dihydroxy-7,8 coumarine (C ₁₉ H ₁₈ O ₅)	C ₃ H ₇	OH	OH		OCH ₃	264°	0
CXLII - p-méthoxy-phényl-3 n-propyl-4 dihydroxy-6,7 coumarine C ₁₉ H ₁₈ O ₅)	C ₃ H ₇	OH	OH		OCH ₃	272°	0
CXLIII - p-méthoxy-phényl-3 n-propyl-4 méthoxy-7 coumarine (C ₂₀ H ₂₀ O ₄)	C ₂ H ₇	CCH ₃			OCH ₃	156°	(151) +
CXLIV - p-méthoxy-phényl-3 n-propyl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₁₉ H ₁₈ O ₄)	C ₃ H ₇	OH			OCH ₃	200°	(151) ++
XXV - p-hydroxy-phényl-3 n-propyl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₁₈ H ₁₆ O ₄)	C ₃ H ₇	OH			OH	265°	(151) +++
CXLV - p-éthoxy-phényl-3 n-propyl-4 éthoxy-7 coumarine (C ₂₂ H ₂₄ O ₄)	C ₃ H ₇	OC ₂ H ₅			OC ₂ H ₅	115°	++
CXLVI - p-méthoxy-phényl-3 n-propyl-4 acétyloxy-7 coumarine (C ₂₁ H ₂₀ O ₅)	C ₃ H ₇	OCOCH ₃			OCH ₃	182°	++

Tableau X (suite)

CXLVII - p-acétyl-oxy-phényl-3 : n-propyl-4 acétyloxy-7 : coumarine (C ₂₂ H ₂₀ O ₆)	C ₂ H ₇	: OCOCH ₃	: OCOCH ₃	: 185°	: +
CXLVIII - p-propioyl-oxy- : phényl-3 n-propyl-4 pro- : pionyloxy-7 coumarine : (C ₂₄ H ₂₄ O ₆)	C ₃ H ₇	: OCOOC ₂ H ₅	: COOC ₂ H ₅	: 129°	: +
CXLIX - p-butyroyl-oxy : phényl-3 n-propyl-4 : butyroyloxy-7 coumarine : (C ₂₆ H ₂₈ O ₆)	C ₃ H ₇	: OCOOC ₃ H ₇	: OCOOC ₃ H ₇	: 128°	: +
CL - p-benzoyl-oxy-phényl-3 : n-propyl-4 benzoyloxy-7 : coumarine (C ₃₂ H ₂₄ O ₆)	C ₃ H ₇	: OCOOC ₆ H ₅	: OCOOC ₆ H ₅	: 211°	: +
CLI - p-méthoxy-phényl-3 : n-propyl-4 (oxyméthylène- : carbonate d'éthyle)-7 : coumarine (C ₂₃ H ₂₄ O ₆)	C ₃ H ₇	: OCH ₂ --- : COOCC ₂ H ₅	: OCH ₃	: 102°	: +
CLII - p-hydroxy-phényl-3 : isopropyl-4 hydroxy-7 : coumarine (C ₁₈ H ₁₆ O ₄)	iso- C ₃ H ₇	: OH	: OH	: 300°	: +
CLIII - p-méthoxy-phényl-3 : isopropyl-4 hydroxy-7 : coumarine (C ₁₉ H ₁₈ O ₄)	iso- C ₃ H ₇	: OH	: OCH ₃	: 288°	: +
CLIV - p-méthoxy-phényl-3 : isobutyl-4 hydroxy-7 : coumarine (C ₂₀ H ₂₀ O ₄)	iso- C ₄ H ₉	: OH	: OCH ₃	: 178°	: (151) 0

Tableau X (suite)

CLV - p-méthoxy-phényl-3 n-caproyl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₂₁ H ₂₂ O ₄)	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	OH	OCH ₃	156°	(151)	0
CLVI - p-méthoxy-phényl-3 n-undecanoyl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₂₇ H ₃₄ O ₄)	C ₂₇ H ₃₄ O ₄	OH	OCH ₃	125°		0
CLVII - p-hydroxy-phényl-3 n-undecanoyl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₂₆ H ₃₂ O ₄)	C ₂₆ H ₃₂ O ₄	OH	OH	170°		0
CLVIII - p-méthoxy-phényl-3 phényl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₂₂ H ₁₆ O ₄)	C ₂₂ H ₁₆ O ₄	OH	OCH ₃	237°		0
CLIX - Phényl-3, phényl-4 hydroxy-7 coumarine (C ₂₁ H ₁₄ O ₃)	C ₂₁ H ₁₄ O ₃	OH		283°		0
CLX - Phényl-3 p-méthoxy- phényl-4 méthoxy-7 coumarine (C ₂₅ H ₁₈ O ₄)	C ₂₅ H ₁₈ O ₄	OCH ₃	OCH ₃	167°		0

- Conclusions -

Il ressort de ces données que les deux fonctions antivitamine K et oestrogène, bien que paraissant liées tout d'abord, sont en fait dissociables.

On trouve des oestrogènes non antivitamines K et des hypoprothrombinémiants non oestrogènes. Cependant, si la fonction oestrogène ne semble pas liée à l'hypoprothrombinémie, on ne peut en dire autant des troubles de la coagulation vus dans leur ensemble; il est en effet troublant de constater que l'hémophilie ne se transmet par la mère qu'aux descendants mâles; de plus, à l'heure actuelle, une thérapeutique qui a donné de bons résultats dans ce cas est justement le traitement aux oestrogènes (43).

(159)^{fin} Enfin, nous signalons que des auteurs américains (Stawler) ont induit tout récemment chez le poulet, une activité antithrombique, par des oestrogènes.

Des rapports étroits semblent bien exister entre coagulation et oestrogènes et nous espérons que notre contribution dans ce sens permettra d'aller plus avant dans la connaissance de ces phénomènes extrêmement complexes.

-:-:-:-:-

3^e P A R T I E

- P A R T I E B I C I O G I Q U E -

P L A N

Pages

I - <u>Introduction : Coagulation sanguine et anticoagulants.</u>	56
II - <u>Etude du mode d'action du P.I.D., in vivo.</u>	64
A) <u>Comparaison entre le P.I.D. et le D.A.E. (dicoumarinyl acétate d'éthyle)</u>	64
I-Dose unique de P.I.D. et de D.A.E.	64
2-Traitement anticoagulant	66
B) <u>Influence du traitement au P.I.D. sur la prothrombine et les facteurs V et VII</u>	67
I-Méthodes employées	68
2-Résultats : chez le lapin	70
chez l'homme	77
C) <u>Influence du traitement au P.I.D. sur la concentration optima en calcium, nécessaire à la mesure du temps de Quick.</u>	79
I-Conc. inférieures à la conc.optima	81
2-Conc. supérieures à la conc.optima	82
3-Conclusions	83
D) <u>Influence du traitement au P.I.D. sur le facteur sérique de coagulation</u>	83
I-Mise en évidence du facteur séri- que : techniques.	84
2-Influence du traitement au P.I.D.	85
a - en fonction du % en Proth.	85
b - stabilité du facteur sérique	87
c - proportionnalité dans l'action du facteur sérique	87
d - influence du facteur V	88
E) <u>Influence du traitement au P.I.D. sur l'antithrombine du plasma</u>	89
I-Nature de l'antithrombine	90

2-Méthodes employées	91
3-Variabilité de la quantité d'anti-thrombine en fonction du % en pro-thrombine et en facteur V	95
4-Action d'un traitement au dicoumarol sur l'antithrombine	97
5-Action du traitement au P.I.D. sur l'antithrombine, chez le lapin.	98

F) <u>Etude spectrophotométrique d'un plasma après traitement au P.I.D.</u>	100
---	-----

III - <u>Activité antivitaminique K comparative de quelques Arylindanediones, in vivo chez le rat</u>	104
---	-----

IV - <u>Etude de l'action anticoagulante, in vitro du P.I.D.</u>	113
--	-----

A) <u>Action du P.I.D. sur le temps de coagulation</u>	113
--	-----

B) <u>Action du P.I.D. sur la conservation des plasmas</u>	114
--	-----

I-Action sur le facteur labile conservation à différentes tem- pératures, en présence de P.I.D.	114
---	-----

26 Action sur une nouvelle antithrom- bine apparue au cours de la conser- vation à 37°	118
--	-----

a) nature de cette anti- thrombine	118
---------------------------------------	-----

b) action du P.I.D. sur cette antithrombine	123
--	-----

3-Action du P.I.D. sur la thrombine	123
-------------------------------------	-----

C) <u>Etude comparative de quelques substances déjà étudiées in vivo, sur la coagulation des plasmas in vitro</u>	125
---	-----

En fonction de ces données, on s'est demandé depuis longtemps à quoi étaient imputables certains troubles de la coagulation : l'hémophilie, l'avitaminose K, les hémorragies dues au Mélite gâté, etc... qui se traduisent par un allongement du temps de coagulation. Cependant, jusqu'à Quick, on ne savait quel était le facteur responsable des troubles observés. En effet, on se contentait d'une mesure globale du temps de coagulation : temps de Lee-White sur le sang (133) entier, ou temps de recalcification de Howell (99) sur le plasma citraté, à 37°. Quick (212) (220) émit le principe qu'en présence d'un taux optimum de calcium et d'un excès de thromboplastine apporté extemporanément, le temps de coagulation du plasma citraté ou oxalaté, à 37°, dépendait uniquement de la concentration du plasma en prothrombine. C'est la méthode à un temps de Quick que nous utiliserons tout au long de notre travail.

Il a pu être ainsi démontré qu'un grand nombre de troubles de la coagulation sont dus à une déficience en prothrombine (avitaminose K, ingestion du dicoumarol, certains troubles congénitaux). Elle a également permis de préciser que le taux de prothrombine, ainsi dénommé jusqu'à ces dernières années, était en réalité la résultante de l'inter-action entre la prothrombine vraie et de nouveaux facteurs plasmatiques jusqu'alors inconnus; le taux de prothrombine signifiant en fait le taux d'activité de cette prothrombine ou encore la vitesse de conversion de cette prothrombine en thrombine. En effet, Quick (218) (223) étudiant la conservation de plasmas en glacière s'aperçut que les temps de prothrombine s'allongeaient. Or, la teneur en prothrombine vraie reste constante (100%) en effet l'addition à ce plasma conservé d'une très faible quantité (1%) de plasma frais (déprothrombiné par adsorption sur phosphate tricalcique) ramène les temps de Quick allongés, à des temps normaux. Cette méthode a donc mis en évidence l'intervention d'un nouveau facteur indispensable à une coagulation normale et qui disparaît par vieillissement, Quick a appelé ce facteur, le facteur labile.

Owren (198) arrive à la même conclusion par l'étude des plasmas des pseudo-hémophiles ayant des temps de coagulation très allongés; en effet, l'addition de plasma frais déprothrombiné ramène leur temps de Quick à la normale. Owren appelle le facteur en cause, le facteur V. De même Seegers (243) (281) (*) a isolé du plasma frais

(*) Notons que Seegers au cours de son travail, a utilisé la méthode de dosage de la prothrombine en 2 temps (283) 1er temps : activation de la prothrombine du plasma (pré-alablement défibriné) par la thromboplastine et le calcium; 2ème temps : mesure du temps de coagulation d'une solution de thrombine ainsi préparée et convenablement diluée.

de boeuf une globuline, la plasma Ac. globuline qui a les mêmes propriétés que les facteurs précédents. Il a également montré que le serum renferme une autre Ac. globuline, différente, car elle est capable d'activer la prothrombine en thrombine (en présence de thromboplastine et de calcium) de façon beaucoup plus rapide. (282) De même, Owren a décrit l'apparition du facteur VI (198) au cours de la coagulation, facteur autocatalytique capable d'activer la transformation de prothrombine en thrombine et qui résulterait de l'interaction entre facteur V, prothrombine, thromboplastine et calcium. Actuellement, Owren désigne respectivement les facteurs V et VI par les termes pro-accélerine et accélerine (199)

Alexander (4) a également isolé du serum un facteur d'activation de la prothrombine qu'il appelle Spea (Sérum prothrombine conversion accelerator) qui se laisse adsorber par le sulfate de barium au même titre que la prothrombine.

Enfin, récemment, Koller (58) a mis en évidence dans le plasma la présence d'un activateur de la prothrombine qu'il appelle facteur VII et qui se comporte comme la prothrombine vis à vis de ses adsorbants sélectifs mais qui est moins facilement retenu par les filtres Seitz.

En résumé, il existe, en dehors de la prothrombine, de la thromboplastine et du calcium, trois séries de facteurs capables d'activer la transformation de la prothrombine en thrombine :

1) le facteur V, (198) ou facteur labile de Quick (218) (225) ou plasma Ac. globuline de Segers, (245) (281) ou pro-accélerine d'Owren, (199) ou prothrombine convertibility factor de Smith, (284) ou accelerator factor de Pantl et Nance (60) ou cofacteur plasmatique d'Honorato, (96) ou Plasmakinine de Laki (131) facteurs peut-être tous identiques mais dont la caractéristique essentielle est de ne pas se laisser adsorber par les adsorbants sélectifs de la prothrombine (phosphate tricalcique, $SO_4 Ba$, $Al(OH)_3$, filtre Seitz etc ...)

2) le facteur VI d'Owren (198), ou Spea d'Alexander (4) ou Serum Ac. globuline de Segers (282) ou cothromboplastine (143) ou convertine d'Owren (199) ; facteurs apparaissant au cours de la coagulation et que l'on trouve dans le sérum, caractérisés par leur adsorbabilité identique à celle de la prothrombine par les adsorbants déjà cités.

3) le facteur VII de Koller (58), ou facteur stable d'Owren. (197), ou proconvertine d'Owren (capable de se transformer en convertine au cours de la coagulation). Ce dernier facteur

préexiste dans le plasma avant toute coagulation. Il présente en général la même propriété d'adsorbabilité que la prothrombine vis à vis des agents déjà signalés sauf toutefois les filtres Seitz dans le cas du facteur VII bovin.

Deux écoles différentes se dessinent dans l'interprétation du rôle de ces facteurs ; pour la première, la prothrombine est transformée en thrombine, grâce au calcium, à la thromboplastine et à une série de trois facteurs intervenant comme activateurs : les facteurs V, VI et VII (théorie de Seggers, Kollier, Owren etc ...). Pour la deuxième, et c'est l'école de Quick, (226) la formation de thrombine nécessite seulement l'interaction de la thromboplastine, du facteur labile, du calcium et de la prothrombine stœchiométriquement. Les autres facteurs d'activation que nous venons de signaler ne seraient dus qu'à la transformation d'un prothrombinogène inactif en prothrombine active, au contact d'une surface rugueuse.

B-ANTICOAGULANTS

Comme nous venons de le voir dans la I^{ère} partie, la recherche de molécules physiologiquement actives comme anticoagulants, guidée par la notion d'analogie structurale, nous a mis entre les mains un dérivé nouveau, le P.I.D., capable d'abaisser notablement la prothrombine chez le lapin. Il était cependant important de savoir si thérapeutiquement un tel dérivé apportait un avantage quelconque par rapport aux médicaments déjà existants.

Si on examine la très vaste littérature afférente à l'utilisation des anticoagulants, on constate que les produits employés actuellement sont en très petit nombre et peuvent tous se classer en deux séries de mode d'action très différent : la série de l'héparine et celle du dicoumarol.

1°) L'HEPARINE

L'héparine fut découverte par Howell en 1918. Elle n'a cependant pratiquement été utilisée que ces dernières années en raison de la grande difficulté de sa purification. C'est un produit naturel isolé actuellement à partir du poulmon de boeuf. Sa structure fine a été déterminée récemment par Jorpes et Coll (115) Meyer et Coll (168) : c'est un polysaccharide dont les maillons sont constitués par une glucosamine en liaison glucosidique α avec un acide glycuronique, les fonctions hydroxyle et $-NH_2$ étant plus ou moins estérifiées par l'acide sulfurique. Cette structure totalement étrangère à celle du dicoumarol permet également de comprendre la différence entre le mécanisme d'action de ces deux anticoagulants. En effet la caractéristique essentielle de l'héparine est d'agir in vitro et in vivo en allongeant immédiatement le temps de coagulation du plasma.

Elle intervient surtout par son action antithrombine et antithromboplastine, mais elle n'est pas en elle-même un anticoagulant ; elle empêche l'activation de la prothrombine et elle s'oppose à l'action de la thrombine grâce aux complexes qu'elle forme avec des cofacteurs plasmatiques ; ce sont ces complexes qui sont anticoagulants.

L'héparine s'administre par injection intraveineuse ou intramusculaire. Son seuil d'action est de 0,25 mg/Kg, mais elle disparaît rapidement de la circulation nécessitant la répétition fréquente des injections. Les cliniciens suédois (19) emploient une prophylaxie post-opératoire à l'héparine, pour éviter les complications thromboemboliques pendant les 5 à 8 jours critiques qui suivent une opération. Ils effectuent des injections répétées toutes les 4 heures, la dose utilisée par jour étant de 350 mg. L'héparine, anticoagulant, précieux est un médicament d'urgence. Ses avantages sont : action immédiate, contrôle des temps de coagulation peu fréquents, antidotes en cas de surdosage (bleu de toluidine, sels de protamine), pas d'action sur la perméabilité capillaire, possibilités thrombolytiques. Cependant l'héparine a aussi des inconvénients : nécessité d'injections fréquentes, inactivité totale par voie orale, phénomènes de sensibilisation par applications répétées.

Pour remplacer l'héparine, de nombreux auteurs ont essayé de préparer par synthèse des dérivés à structure apparentée. L'héparine doit sa propriété de former des complexes avec les protéines à son caractère acide fort (106). C'est pourquoi tous les héparinoïdes préparés à ce jour sont des polysaccharides sulfatés. Cependant, la plupart des dérivés obtenus sont toxiques par suite d'actions secondaires néfastes (177), telles que précipitation du fibrinogène, agglutination des plaquettes, abaissement de la tension sanguine, par effet de choc dû aux grosses molécules. Quelques produits non toxiques ont été préparés et ils sont utilisés actuellement en thérapeutique au même titre que l'héparine. Ce sont les esters sulfuriques de l'acide alginique ou Paritol (256) que l'on administre à la dose de 600 mg par jour en deux fois, le Thrombocid (37) (ester sulfurique de xylane), à la dose de 600 mg par jour en trois fois, le Triburon (141) (esters dérivés des acides pectiques), les esters sulfuriques de dextrane (279) et l'acide hyaluronique trisulfaté (200). Tous ces héparinoïdes semblent présenter les avantages et les inconvénients de l'héparine quoique les essais cliniques connus n'aient pas encore été décrits sur une grande échelle. A l'heure actuelle, on effectue un traitement d'attaque à l'héparine ou avec un des héparinoïdes décrits en attendant que s'institute l'hypocoagulabilité. Le traitement d'entretien est alors poursuivi avec le dicoumarol ou un de ses substituts.

Le dicoumarol, par contre, n'a aucune action in vitro et il n'agit in vivo qu'après un temps de latence relativement long.

Quoique n'intervenant pas sur les facteurs circulants de la coagulation, il a cependant une activité curative plus évidente chez les malades prédisposés aux thromboses, car il réduit de façon continue la synthèse par le foie d'un des éléments indispensables à la coagulation : la prothrombine (258). Remarquons que cette méthode curative ne s'attaque cependant pas à la cause du mal. Il est bien connu, en effet, que certaines thromboses peuvent avoir lieu en présence d'une insuffisance en prothrombine. La méthode consiste à diminuer à des taux thérapeutiques, un des facteurs de la coagulation sur lequel on a prise. De la sorte, le sang étant devenu peu coagulable, la cause réelle occasionnant la thrombose ne peut plus faire jouer à plein le mécanisme global de la coagulation. Cette remarque est évidemment valable pour toutes les autres drogues prothrombopéniques utilisées. Les avantages du dicoumarol sur l'héparine sont : utilisation per os, produit synthétique, action prolongée. Cependant le dicoumarol présente des inconvénients majeurs :

1) Son action ne commence à se faire sentir que très lentement (219) et son effet optimum n'est habituellement atteint qu'après 72 à 96 heures.

2) Son action dure longtemps après la cessation du traitement et des risques importants d'hémorragie peuvent faire suite aux risques de thrombose. Bjerkelund (26) a noté chez l'homme une inhibition totale de la synthèse de la prothrombine par le foie pendant 2 à 4 semaines après l'arrêt de la drogue.

3) Son action est sujette à de graves variations individuelles de sorte que si un malade voit son taux de prothrombine abaissé à 20 % à l'aide de 30 mg de dicoumarol, un autre patient exigera, pour le même abaissement, 150 mg. Il est donc indispensable d'effectuer des dosages fréquents et très précis de prothrombine pour ne pas risquer une hémorragie ou une action thérapeutique nulle.

4) La perméabilité capillaire est abaissée ce qui peut être un risque d'hémorragie (87).

5) Il n'apparaît pas d'action thrombolytique évidente (87).

6) En dehors de la transfusion sanguine, il n'existe pas d'antidote immédiat et réel, quoique la vitamine K₁ par voie parentérale permette un retour du taux de prothrombine à la normale, plus rapide (44) (227).

Les doses couramment utilisées avec le dicoumarol sont de 300 mg le premier jour, 200 mg le 2ème jour et 100 mg le 3ème jour et les jours suivants, l'abaissement de la prothrombine à des taux thérapeutiques de 30 % s'effectuant après 48 heures en moyenne. Après l'arrêt de la drogue, le retour à la normale est très lent (plusieurs jours).

Pour éviter ces inconvénients, on a cherché à substituer au dicoumarol des dérivés plus facilement maniabiles. Parmi les centaines de dérivés plus ou moins actifs présentant quelque parenté structurale avec le dicoumarol, les seuls produits ayant jusqu'à présent fait leurs preuves sont : le dicoumarinyl-acétate d'éthyle (tromexan) découvert par Rosicky (234) en Tchécoslovaquie et la phényl-indanedione (pindione) signalée pour la première fois par nous-même en collaboration avec Meunier et Mentzer (165).

1°) - Dicoumarinyl-acétate d'éthyle ou D.A.E. -

Ce produit est beaucoup moins toxique que le dicoumarol. Chez l'homme, il a été utilisé avec succès dans le traitement des thromboses par de nombreux auteurs. Tous reconnaissent l'efficacité du produit, son absence de toxicité, sa rapidité d'action et d'élimination, cette dernière expliquant la rareté et la bénignité des hémorragies.

A l'heure actuelle, le traitement au D.A.E. s'effectue de la façon suivante (37) : dose initiale 1.200 à 1.800 mg par jour suivie d'une dose de maintien de 600 à 900 mg par jour. Ce dérivé a donc environ 1/6 de l'activité du dicoumarol. Généralement le taux thérapeutique de 30 % de prothrombine est atteint au bout de 24 heures et le retour à la normale s'effectue dans les 2 à 3 jours qui suivent la fin du traitement. Le D.A.E. est plus maniable et mieux toléré que le dicoumarol, mais il ne dispense pas toujours de l'héparinisation (phlébite, embolie, suites opératoires). De plus, il donne lieu à une sensibilité individuelle assez large et à des variations de sensibilité au cours du traitement (41), ce qui nécessite des dosages de contrôle de la prothrombine, fréquents et qui peuvent conduire à modifier les doses.

2°) - La phényl-indanedione ou P.I.D. -

La phényl-indanedione dont l'action anticoagulante a été découverte par Meunier, Mentzer et Molho en 1947 a fait depuis cette date l'objet d'expérimentation tant chez l'animal que chez l'homme. Soulier et Gueguen (257), au cours de leurs essais, employèrent en une fois de très fortes doses (10 à 20 mg ou Kg.). Ils notèrent une action précoce du produit (6 h. après l'ingestion), l'effet anticoagulant disparaissant 24 à 36 h. après le traitement. Il est à remarquer que dans ces essais, il ne semble y avoir aucune proportionnalité entre la dose de P.I.D. employée et l'abaissement du taux de prothrombine, lequel semble ne jamais dépasser le taux de 30 %. Ces

auteurs n'eurent aucun effet inverse par addition simultanée de vitamine K₃. Signalons enfin qu'à ces doses très brutales, il apparaît quelques actions secondaires désagréables : sécheresse de la bouche, polyurie, tachycardie.

Par contre, Jacques (110) emploie de petites doses répétées (1 mg. au Kg toutes les 8 h.); il peut obtenir ainsi un allongement infini du temps de Quick.

Levy-Solal et Coll (138) et Simon (249) associent le P.I.D. à l'osculoside et obtiennent ainsi une potentialisation du produit. Mais c'est Blaustein (28) qui a le mieux codifié la posologie du médicament : 150 mg le premier jour, puis 65 mg par jour en moyenne. Ainsi, il obtient régulièrement un taux de prothrombine de 30 %. L'action se manifeste après 24 heures de traitement et cesse 48 h. après l'ingestion du produit. Tous ces derniers auteurs s'accordent à ne trouver aucune des actions secondaires signalées par Soulier et Gueguen (257). De même tous remarquent qu'il n'y a pratiquement pas de risques hémorragiques malgré les taux de prothrombine les plus bas. Signalons enfin que Bjerkelund (26) trouve que la vitamine K₁ agit comme un antagoniste du P.I.D. car par voie intraveineuse, à la dose de 50 mg par jour, elle diminue considérablement l'activité hypoprothrombinémiante du P.I.D.

Bjerkelund (26) établit une comparaison entre l'activité anticoagulante du dicoumarol et du P.I.D. A la dose unique de 200 mg, le P.I.D. agit au bout de 12 heures, le maximum d'action se situant entre 24 et 36 heures, le taux de prothrombine étant alors de 32 %. Pour abaisser la prothrombine au même taux, cet auteur est obligé d'employer une dose unique de dicoumarol de 275 mg; dans ce cas, le retour à la normale ne s'effectue que 8 à 9 jours après.

Par conséquent le P.I.D. apparaît comme une amélioration par rapport au dicoumarol. Son action est plus uniforme, plus rapide et moins prolongée et son activité est plus grande à dose égale. S'il agit plus vite et de façon moins prolongée, cela doit tenir, d'après P. Mounier, à sa plus grande facilité de dissolution, d'absorption mé-sentérale et d'élimination rénale. Cependant, si cette étude comparative entre P.I.D. et dicoumarol a déjà été décrite, une comparaison analogue entre P.I.D. et D.A.E. manque. Or, le D.A.E. ayant supplanté presque partout le dicoumarol, il nous a paru intéressant d'entreprendre cette comparaison. Nous avons effectué ce travail avec Favre-Gilly, dans le service du Professeur Froment. Nous avons ainsi pu déterminer également les modes d'action du nouvel anticoagulant qu'est le P.I.D. et sa posologie.

II - ETUDE DU MODE D'ACTION IN VIVO DU P.I.D.

A - COMPARAISON ENTRE LE P.I.D. et le D.A.E. CHEZ l'HOMME.

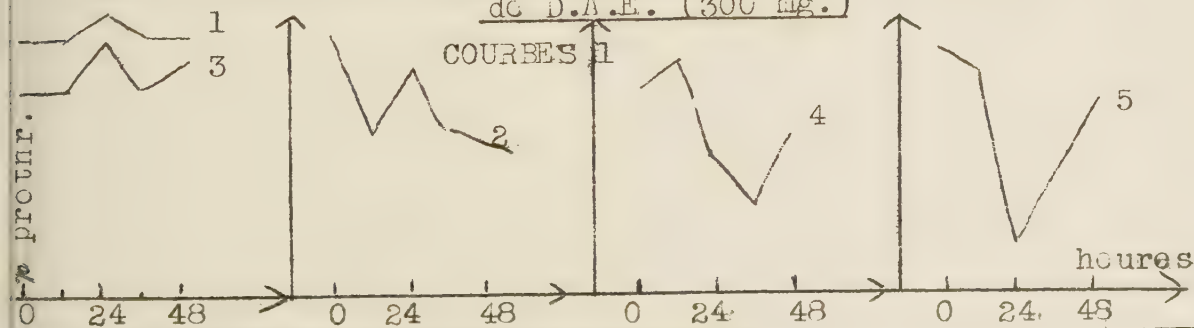
a) action hypoprothrombinémiante de doses uniques de P.I.D. et de D.A.E. -

Parmi les 70 sujets qui ont été soumis à cette étude comparative et dont les résultats ont donné lieu à une publication (62), nous en avons choisi au hasard II, que nous avons plus particulièrement suivis. Nous avons mesuré les variations du taux de prothrombine de 12 h. en 12 h. après un traitement unique soit au P.I.D. (200 mg), soit au D.A.E. (300 mg). Les résultats des dosages de la prothrombine par la méthode de Quick (212) (220) (°) sont consignés dans les tableaux et les courbes suivantes.

TABEAU I

sujets N°	% prothrombine au bout de :				
	0 h.	12 h.	24 h.	36 h.	48 h.
I	90	90	94	90	90
2	68	64	82	66	62
3	77	76	90	77	85
4	75	82	58	44	66
5	83	80	34	53	69

Expériences sur des sujets ayant reçu une dose unique de D.A.E. (300 mg.)

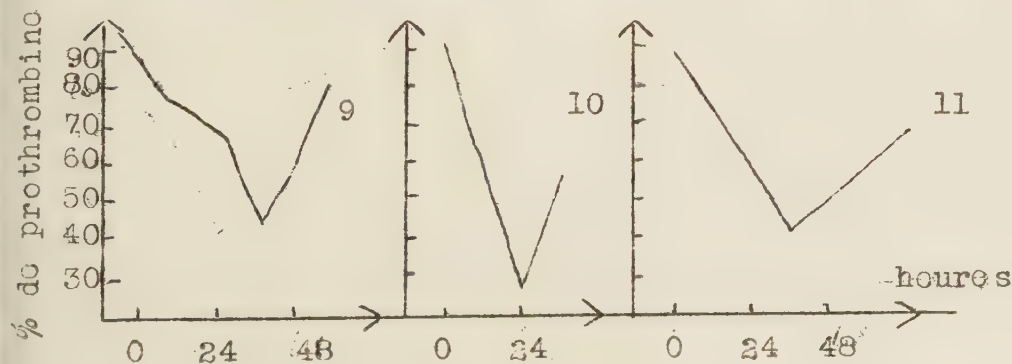
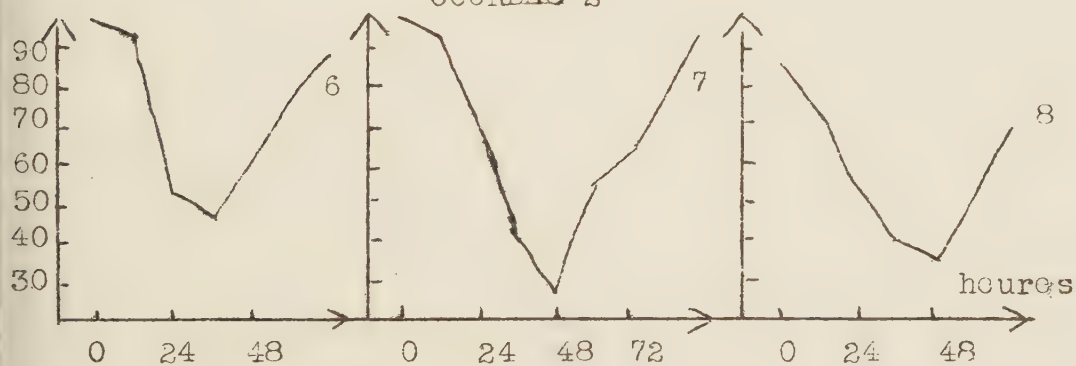


(°) On prélève au patient 10 cm³ de sang sur oxalate de sodium (M/10) (0,1 cm³ pour 1 cm³ de sang); on centrifuge 5 minutes à 3.600 tours et on effectue rapidement le dosage sur le plasma.

sujets N° :	% de prothrombine au bout de :						
	0 h.:	12 h.:	24 h.:	36 h.:	48 h.:	60 h.:	72 h.:
6	100	95	55	49	60	78	90
7	100	95	72	40	29	56	62
8	85	75	57	42	38	50	73
9	95	77	67	45	54	80	82
10	90	60	28	54			
11	86	75	60	40	50		

Expériences sur des sujets ayant reçu une dose
unique de P.I.D. (200 mg)

COURBES 2



Nous pouvons constater que l'action du P.I.D. se manifeste déjà au bout de 12 heures, le maximum se situant entre 24 et 36 heures. Les taux de prothrombine minima se situent entre 28 et 49 %. On note ensuite une rapide remontée du taux de prothrombine, le retour à la normale s'effectuant en moyenne en 72 à 84 heures. Le point le plus important à signaler est la grande uniformité d'action, car tous les sujets soumis au traitement répondent à une dose unique du produit.

Avec le D.A.E., 300 mg en une fois, nous constatons par contre un manque de régularité dans les réponses des différents sujets : sur 5 cas, 2 répondent convenablement, les 3 autres ne donnant que de faibles abaisssements de prothrombine. Le D.A.E. donne donc lieu à une plus grande sensibilité individuelle. Les abaisssements du taux de prothrombine, quand ils ont lieu, sont pratiquement les mêmes pour 200 mg de P.I.D. et 300 mg de D.A.E.

b) traitement anticoagulant par le P.I.D. comparativement au traitement par le D.A.E. -

50 sujets atteints de thromboses veineuses et artérielles, surtout coronariennes, ont été traités par le P.I.D. et les résultats obtenus ont été comparés aux données recueillies par Favre-Gilly et coll. dans le traitement de 60 thromboses par le D.A.E. (61).

Le P.I.D. administré à raison de 200 mg le premier jour, puis 100 mg le deuxième jour, abaisse en moyenne les taux de prothrombine à 34 % après 48 h. chez 12 sujets. Avec 150 mg le premier jour, puis 100 mg le deuxième jour, on obtient en moyenne chez 28 malades, des taux de prothrombine de 38 % après 48 heures. Avec 100 mg le premier jour et 100 mg le deuxième jour le taux de prothrombine est de 44 %, chez 10 sujets. La dose d'entretien ultérieure a pu être déterminée par tâtonnements, après 46 observations; elle se situe entre 50 et 100 mg; dans ces conditions la prothrombinémie dessine un plateau régulier entre 10 et 30 % pendant des périodes allant jusqu'à 25 jours. Dans toutes ces séries d'expériences seuls 2 malades se sont montrés hypersensibles et on a dû interrompre pendant 1 ou 2 jours la dose quotidienne de 50 mg, pour retrouver une courbe de prothrombine thérapeutique. Il n'y eut qu'un seul exemple de résistance, lequel céda avec 200 mg par jour de P.I.D. Le fait important est que la sensibilité individuelle à la drogue est restée inchangée jusqu'à la fin du traitement. 48 h. en moyenne après cessation du traitement, la prothrombine atteint un taux supérieur à 50 % quelqu'ait été son abaisssement antérieur et le retour à 100 % s'effectue en 3 ou 4 jours.

Avec le D.A.E., la chute des taux de prothrombine se fait avec une rapidité analogue et la réascension demande également 3 jours, mais la dose d'attaque est 4 fois à 4 fois 1/2 plus forte (600 à 900 mg). La dose

d'entretien est six fois plus forte qu'avec le P.I.D. (300 à 600 mg par jour). De plus, il apparaît au cours du traitement une variation de la sensibilité individuelle à la drogue. Notons enfin qu'avec le P.I.D., des taux très bas de prothrombine, pratiquement indosables, s'accompagnent moins souvent d'hémorragies qu'avec le D.A.E.

Dans les cas où le P.I.D. a été employé à titre préventif de thromboses, dans des suites opératoires, Favre-Gilly (62) considère que la thrombose a été évitée. L'impression reste favorable dans les infarctus du myocarde, les thrombo-phlébites ou embolies pulmonaires des suites d'opérations ou d'accouchements, les cardiopathies mitrales emboligènes et un cas de thrombose auriculaire à la suite d'un rétrécissement mitral.

D'après ces données, le P.I.D. apparaît donc comme capable de se comparer avantageusement au D.A.E.

B - INFLUENCE du TRAITEMENT du P.I.D. sur la

PROTHROMBINE et les FACTEURS V et VII.-

Nous avons abouti à la structure de la phényl-indane dione à partir de la structure du dicoumarol par simplifications successives de la molécule. Il ne reste de commun entre les 2 structures que la présence d'un groupement énolique.



Par ailleurs nous avons constaté que ces deux dérivés agissaient chez l'homme de façon comparable à dose sensiblement égale, sur l'allongement du temps de Quick. Cette interprétation est valable quand on connaît le mode d'action du produit. Dans le cas du dicoumarol, on sait que c'est principalement la prothrombine qui est touchée. Or, la mesure du temps de Quick est plutôt la traduction du degré d'activation de la prothrombine.

Aussi on comprend qu'un agent anticoagulant puisse atteindre justement la synthèse ou l'utilisation de ces facteurs d'activation, sans pour autant diminuer la prothrombine elle-même, et cependant le temps de Quick restera allongé. Jaques a d'ailleurs cru que le P.I.D. n'agissait pas sur la prothrombine et qu'il n'abaissait que le facteur V (109).

C'est pourquoi nous avons entrepris de préciser le mode d'action du P.I.D. sur la majorité des facteurs intervenant dans la coagulation; la prothrombine, le facteur V, le facteur VII, le facteur VI ou Spea, le calcium, l'antithrombine progressive.

Comme nous voulons déterminer jusqu'à quel point le mécanisme d'action du P.I.D. est semblable à celui du Dicoumarol, nous allons tout d'abord rapporter l'action de ce dernier sur les facteurs de la coagulation, telle qu'elle résulte de l'examen de la littérature.

Le dicoumarol abaisse considérablement le taux de prothrombine récl. Il est capable de se fixer dans la cellule hépatique où il semble entrer en compétition avec la vitamine K en ce qui concerne la synthèse de la prothrombine (Jaques) (III) (132). Il n'a pas d'activité antithrombine et antithromboplastine et n'agit pas in vitro. Selon Quick (225), Owren (198) et Dem (50) (255), le dicoumarol n'a aucune influence sur la série des facteurs apparentés au facteur V, bien que Félix et Coll (63), Owren et Bollmann (195) aient décelé, par la méthode de dosage à deux temps, une diminution de ce facteur (*). Par contre, le dicoumarol diminue les deux autres activateurs que sont les facteurs VI ou Spea (5) et VII (58). Le produit intervient donc essentiellement sur le premier temps de la coagulation sanguine en diminuant la synthèse hépatique des facteurs Spea et VII et de la prothrombine mais il n'a aucune action sur le deuxième temps de la coagulation, à savoir l'action de la thrombine sur le fibrinogène. Il n'a pas non plus d'action sur la concentration en antithrombine du plasma (196). A de très fortes doses, il peut diminuer le taux de fibrinogène sanguin (286), mais cette donnée est apparemment le résultat d'un empoisonnement hépatique n'ayant rien à voir avec la thérapeutique des thromboses.

Le dicoumarol crée également une hypocalcémie relative (107) (222) et il a été signalé qu'il diminuait l'activité de la thromboplastine extraite de cervelles de lapins traités (260) (185). Par ailleurs, le dicoumarol relâche la perméabilité capillaire, agissant comme une antivitamine P (144) et il est vraisemblable que c'est également par ce processus, en plus de l'abaissement du taux de prothrombine global, qu'il agit victorieusement sur les thromboses.

I - METHODES EMPLOYEES -

a) Adsorption sélective sur phosphate tricalcique de la prothrombine du plasma oxalaté -

Opération effectuée selon Quick et Stéfanni (225), le phosphate étant préparé par double décomposition entre le phosphate trisodique et le chlorure de Ca. On place dans un tube à centrifuger 0cm³ 5 de suspension de phosphate tricalcique 0,008 M, on centrifuge pour rassembler le précipité, on décante l'eau et sèche le tube.

(*) Il semble en fait que la différence entre les résultats donnés par les deux méthodes ne soit pas due au facteur labile puisque cette différence disparaît par l'emploi d'une thromboplastine lécithine, venin de vipère Russell, dépourvue de facteur labile (146).

On ajoute alors 0,5 cm³ de plasma au culot de centrifugation. On agite énergiquement pour remettre le gel en suspension. On maintient 10 minutes en contact à la température ordinaire en agitant fréquemment. On centrifuge 2 minutes à 3.000 tours et on recueille le plasma clair surnageant.

Ce plasma ne contient plus de prothrombine ni de facteur VII.

b) Mesure du temps de recalcification d'un plasma par la méthode de Howell -

Dans un tube à hémolyse, on introduit 0,1 cm³ de plasma frais (décalcifié) puis 0,1 cm³ de sérum physiologique et 0,1 cm³ de chlorure de calcium (0,025 M).

On met en marche le chronomètre au moment où on ajoute le chlorure de calcium. On note le temps nécessaire à la coagulation, c'est à dire nécessaire à l'apparition d'un gel de fibrine qui ne coule plus lorsqu'on incline le tube.

c) Mesure du temps de prothrombine par la méthode de Quick -

- Réactifs :

Thromboplastine : On met en suspension dans 3 cm³ de sérum physiologique 150 mg de thromboplastine BioLyon, non calcique. On laisse 1/2 heure en contact en agitant de temps en temps. On place ensuite au B.M. à 50° pendant 15 minutes. On centrifuge 1/2 minute à 1.000 tours et on décante la solution opalescente surnageante.

A cette solution on ajoute une quantité égale de chlorure de calcium 0,025 M. On a ainsi une thromboplastine calcique qui ne sert que pour les essais de la journée, car elle ne se conserve pas.

- Technique (sur plasma oxalaté) :

On introduit 0,1 cm³ de plasma dans un tube à hémolyse. On place ce tube, ainsi que le tube contenant la thromboplastine calcique au B.M. à 37°. Après quelques minutes (temps nécessaire à l'équilibre de la température), on verse d'un seul coup, tout en mettant en marche le chronomètre, 0,2 cm³ de la solution thromboplastine calcique dans le tube contenant le plasma. On agite doucement le tube tout en le maintenant au B.M. On note le temps nécessaire à l'apparition du début de la gelification.

Nous avons étudié précédemment l'influence du P.I.D. sur le taux de prothrombine, taux déterminé de façon globale en utilisant un plasma témoin à 100 % de prothrombine et que l'on dilue successivement avec du sérum physiologique pour obtenir la correspondance entre les temps de Quick et les taux de prothrombine. Or, en opérant de la sorte, si on a effectivement dilué la prothrombine, on a également dilué les autres facteurs du plasma, tels que la fibrinogène, le facteur V, le facteur VII, l'antithrombine et toutes les autres protéines plasmatiques. De plus, l'excès de thromboplastine devient de plus en plus important au fur et à mesure de la dilution et surtout la concentration en calcium va en s'accroissant puisqu'on ajoute de moins en moins de plasma oxalaté, (un excès de calcium risque d'allonger le temps de Quick) : Cependant la mesure effectuée sur le plasma dont la prothrombine est thérapeutiquement abaissée a lieu sur le plasma entier. Aussi, on ne conçoit pas qu'il y ait une correspondance réelle entre les taux de prothrombine et les temps de Quick. Pour éviter ces inconvénients, nous préférons construire cette courbe de correspondance en diluant successivement le plasma témoin non plus avec du sérum physiologique, mais avec le même plasma dont seule la prothrombine aura été éliminée par adsorption sur phosphate tricalcique. La courbe de correspondance ainsi obtenue (N-NT) ne donne plus prise à la critique vis à vis de "l'effet de dilution", puisqu'à chaque dilution on travaille avec un plasma reconstitué.

Nous avons cherché à déterminer si le plasma des sujets soumis au P.I.D. donnait lieu, en plus d'une baisse de la prothrombine, à une diminution des facteurs V et VII.

Si l'addition d'une fraction de plasma normal déprothrombiné au plasma étudié donne lieu à un raccourcissement du temps de Quick, c'est que nous nous trouvons en présence d'une déficience en facteur V. De même si l'addition d'une fraction de plasma normal entier, dont le taux de prothrombine est connu, donne également lieu à un raccourcissement du temps de Quick, par rapport au temps calculé en fonction des seuls taux de prothrombine mis en oeuvre, c'est que le plasma du sujet traité au P.I.D. présente une déficience en facteur V et VII. La différence entre les données de ces deux séries d'expériences permettra de savoir s'il y a déficience en facteur VII.

2 - RÉSULTATS OBTENUS CHEZ LE LAPIN -

Nous avons effectué des séries d'expériences ainsi conçues : un lapin sert de témoin, un autre est soumis au traitement au P.I.D. (20 mg au K° en deux fois, par voie orale en suspension dans l'huile). Au bout de 24 heures, on sacrifie les deux lapins et on recueille leur sang sur oxalate de soude N/10. On centrifuge 5 minutes à 3.000 tours; les plasmas sont ensuite mélangés dans des proportions adéquates.

Le temps de Quick du plasma normal (N) est 8 secondes; celui du plasma du lapin traité au P.I.D. (P.I.D.) est 21 secondes. En nous reportant sur la courbe de correspondance (N-NT) des temps de Quick et des taux de prothrombine, nous constatons que le plasma P.I.D. ne renferme plus que 8 % de prothrombine. (courbe 3)

Nous diluons le plasma P.I.D. avec du plasma NT, c'est à dire riche en facteur labile et sans prothrombine. Nous construisons la courbe P.I.D.-NT, telle qu'elle nous est fournie par l'expérience. Les temps de Quick mesurés, et les taux de prothrombine correspondants sont réunis dans le tableau (III). (voir courbes 4)

TABIEAU III

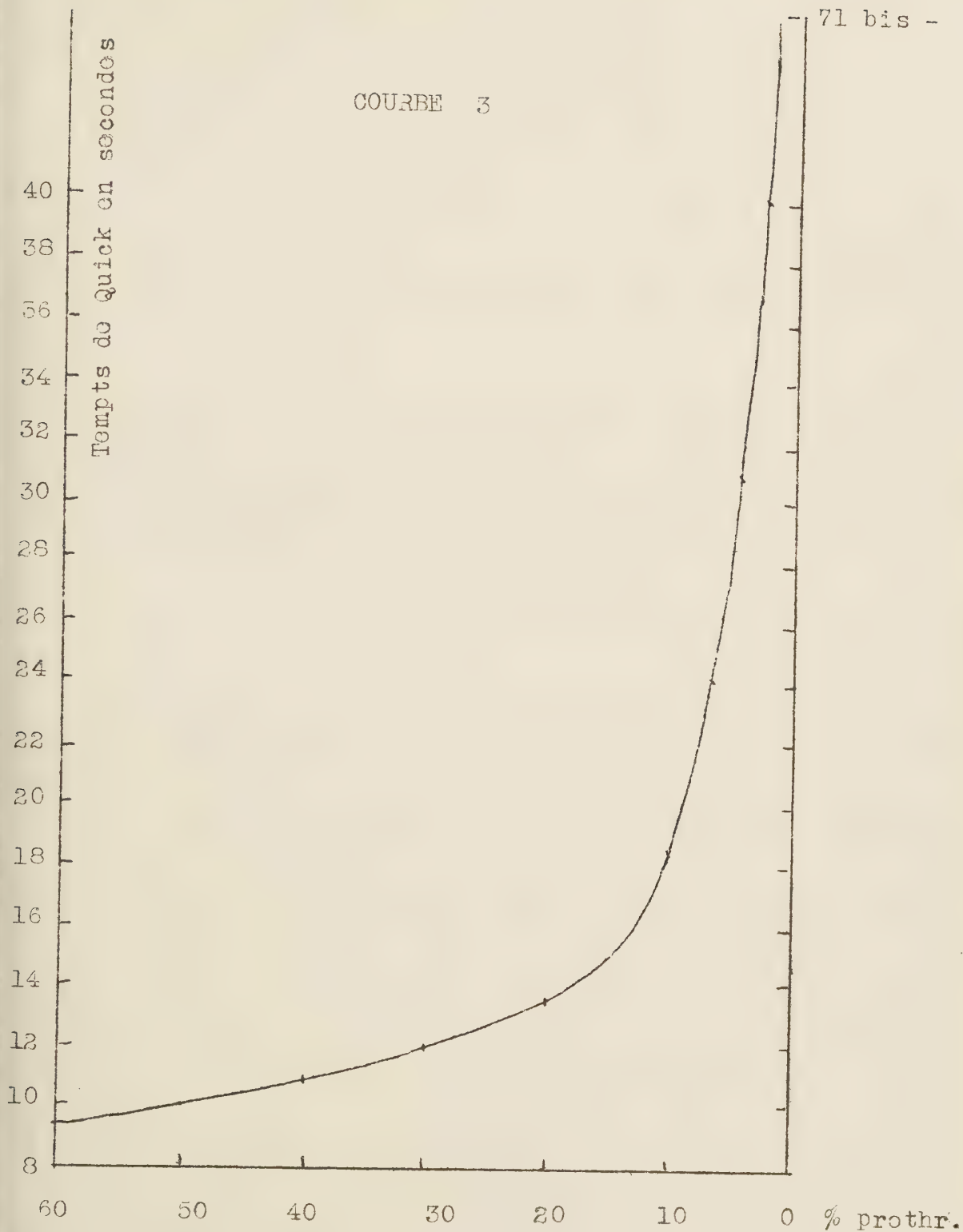
chaque :	100	: 98	: 95	: 90	: 80	: 50	: 4	: 0	:
à dans :	0	: 2	: 5	: 10	: 20	: 50	: 96	: 100	:
dilutions :		:	:	:	:	:	:	:	:
TQ. :	8"	: 8"	: 8"	: 8"	: 8,5"	: 10"	: 31"	: ∞	:
é	:	:	:	:	:	:	:	:	:
roth. :	100	:	:	:	: 80	: 50	: 4	: 0	:
TQ. :	21"	: 20,5"	: 20,5"	: 21"	: 23,5"	: 31,5"	:	: ∞	:
é	:	:	:	:	:	:	:	:	:
roth. :	8	: 8,5	: 8,5	: 8	: 6,5	: 4	:	: 0	:
TQ. :	21"	: 21"	: 21,5"	: 22"	: 24"	: 32"	:	:	:
(°)	:	:	:	:	:	:	:	:	:
roth. :	8	: 7,8	: 7,6	: 7,2	: 6,4	: 4	:	:	:
T	:	:	:	:	:	:	:	:	:
rence :	0	: +0,7	: +0,9	: +0,8	: +0,1	: 0	:	:	:
% mcs. :	:	:	:	:	:	:	:	:	:
alc. :	:	:	:	:	:	:	:	:	:

Le temps de Quick et les pourcentages en prothrombine sont calculés en fonction de la dilution, en supposant que le plasma NT a la même teneur en facteur labile que le plasma P.I.D.

Temps de Quick et taux de prothrombine des plasmas N et P.I.D. dilués avec du plasma NT. (+)

(+) plasma NT = plasma normal traité au phosphate -

COURBE 3



Courbe de correspondance entre temps de
Quick et taux de prothrombine
(plasmas N/NT)

Le plasma P.I.D. semble ne contenir que 8 % de prothrombine; cette baisse apparente provient en fait non seulement d'une baisse de la prothrombine, mais également de l'attaque du facteur V. En effet, l'apport même faible de plasma NT (sans prothrombine mais plus riche en facteur V que le plasma P.I.D.) raccourcit très légèrement le temps de Quick du plasma P.I.D. Cette déficience en facteur V se traduit par un manque d'activation de la prothrombine résistante, ce qui peut se transcrire par un certain taux de prothrombine masquée (différence entre les taux de prothrombine mesurés et calculés). Dans le cas présent, pour un mélange de 10 % de plasma NT et 90 % de plasma P.I.D., il y a 7,2 % de prothrombine réelle et 0,8 % masquée par déficience en facteur V.

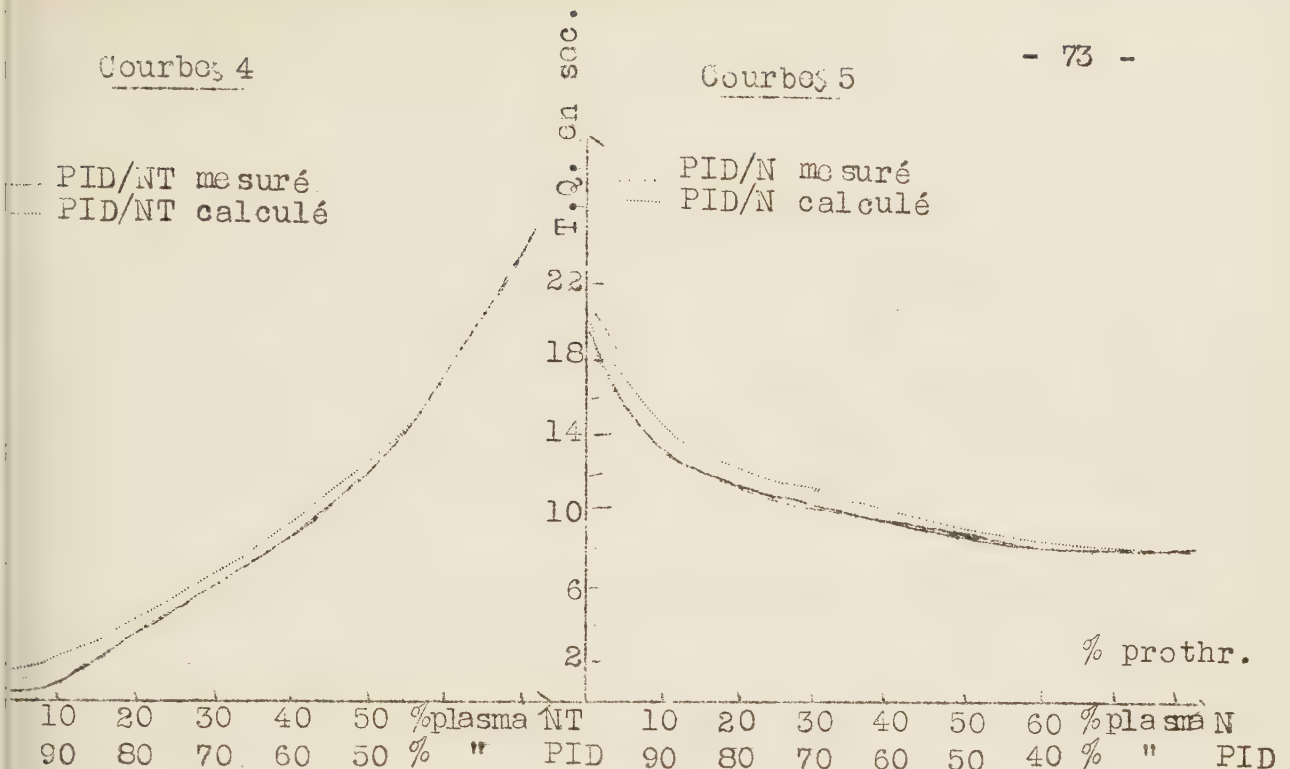
Pour contrôler ces résultats, nous avons repris la même série de mesures, mais en diluant le plasma P.I.D. non plus par le plasma NT, mais par du plasma N (plasma normal renfermant la même proportion de facteur V que le plasma NT, mais apportant en plus une certaine quantité bien déterminée de prothrombine. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant (IV). (voir courbes 5)

TABIEAU IV

chaque	: 100	: 98	: 95	: 90	: 80	: 50	: 4	: 0
a dans	: 0	: 2	: 5	: 10	: 20	: 50	: 96	: 100
mélanges	:	:	:	:	:	:	:	:
TQ.	: 21"	: 18,5"	: 15,5"	: 13"	: 11,5"	: 9"	: 8"	: 8"
é	:	:	:	:	:	:	:	:
proth.	: 8	: 10,5	: 15	: 23	: 35	: 68	: 100	: 100
TQ.	: 21"	: 19"	: 17"	: 14,5"	: 12,5"	: 9,5"	:	: 8"
(°)	:	:	:	:	:	:	:	:
proth.	: 8	: 9,8	: 12,6	: 17,2	: 26,4	: 54	:	: 100
rence	: 0	: 0,7	: 2,4	: 5,8	: 8,6	: 14	:	:
e %	:	:	:	:	:	:	:	:
et calc.	:	:	:	:	:	:	:	:

Le temps de Quick et les pourcentages en prothrombine sont calculés en fonction de la dilution, en supposant que le plasma n'apporte que de la prothrombine en quantité connue

Temps de Quick et taux de prothrombine du plasma P.I.D.
dilué avec le plasma N



Temps de Quick de mélanges de plasma : P.I.D. et NT
d'une part et P.I.D. et N, d'autre part

D'après ces données, nous pouvons constater que les temps de Quick mesurés dans ces dernières conditions montrent des raccourcissements plus grands que ceux correspondant au facteur V et à la prothrombine ajoutée. C'est ainsi par exemple que pour un mélange de 90 % de plasma P.I.D. et 10 % de plasma normal, nous devrions avoir en pourcentage de prothrombine (prothrombine et facteur labile apportés par le plasma N)

$\frac{7,2 \% \text{ PID}}{10 \%}$	+	$\frac{10 \% \text{ N}}{10 \%}$	+	proth. masquée sous l'effet du facteur V apportée par les 10 % de N	=	18 %
						0,8 %

Or, on observe effectivement une teneur en prothrombine de 23 %. La balance ne peut donc être due qu'à la déficience dans le plasma PID d'un facteur différent de la prothrombine et du facteur V et qui se laisse adsorber par le phosphate tricalcique. Nous pensons que le facteur en cause est le facteur VII que Kolmer a isolé du plasma frais.

De même pour 50 % de plasma normal additionné de 50 % de plasma P.I.D., on a :

$\frac{4 \% \text{ PID}}{50 \%}$	+	$\frac{50 \% \text{ N}}{50 \%}$	=	$\frac{\text{proth. masquée par déficience du facteur V}}{0 \%}$	=	54 %
----------------------------------	---	---------------------------------	---	--	---	------

Or, on observe effectivement 68 % de prothrombine. La différence de 14 % dépend du facteur VII; donc la déficience en facteur VII du plasma P.I.D. se manifeste par un défaut d'activité de la prothrombine pouvant se traduire par un taux de prothrombine masquée de 5 % pour un taux réel de prothrombine de

,2 %, soit en extrapolant, 26 % de prothrombine masquée pour 0 % de prothrombine réelle.

En fait, ces dosages différentiels que nous venons décrire, s'ils permettent de constater une certaine diminution dans l'activation de la prothrombine encore présente, du fait de la diminution des facteurs V et VII, ne permettent pas déterminer le pourcentage de déficience propre à chacun de ces facteurs par rapport à la normale. Mais nous préférons une telle imprécision à l'emploi d'autres méthodes consistant à effectuer des séparations fractionnées entre prothrombine et facteur VII. Ces éléments ont des propriétés extrêmement voisines, en fait, on n'est jamais sûr que leur séparation soit totale.

Notons que si le facteur VII semble diminuer de façon sensible, le facteur V par contre est relativement peu touché.

Cependant, il nous a été donné dans d'autres séries d'expériences de constater, avec de fortes doses de P.I.D., une diminution plus importante du facteur V. C'est ainsi qu'avec 80 mg de P.I.D. au Kg, nous obtenons au bout de 12 h. et 24 h. les résultats suivants :

TABLEAU V

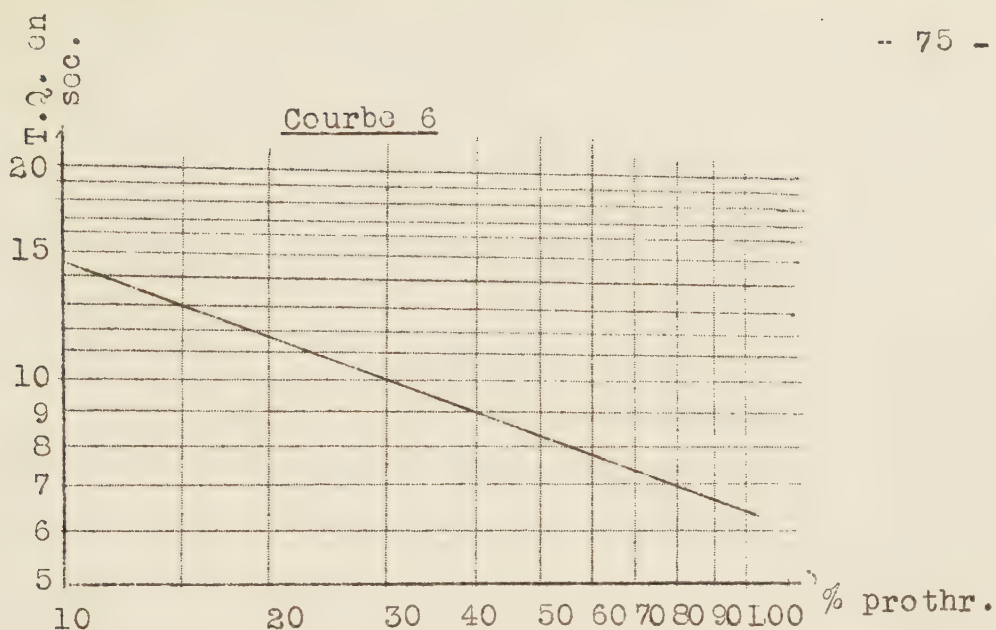
:	:	Tq.	:	% proth.:		
:	:	:	:	:		
:	Plasma normal	:	6,5"	:	100	:
:	:	:	:	:	:	:
:	PID (après 12 h.)	:	11"	:	23	:
:	PID (après 24 h.)	:	12,5"	:	16	:
:	:	:	:	:	:	:

Dans cette expérience avec la thromboplastine utilisée, la courbe de correspondance entre temps de Quick et taux de prothrombine est la suivante : (voir courbe 6)

TABLEAU VI

chaque	:	100	:	70	:	50	:	30	:	20	:	10	:
dans	:	0	:	30	:	50	:	70	:	80	:	90	:
range	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:
Tq.	:	6,5"	:	7,5"	:	8,5"	:	10"	:	11,5"	:	15"	:
% proth.	:	100	:	70	:	50	:	30	:	20	:	10	:

Correspondance entre temps de Quick et taux de pro-
thrombine.



Courbe de correspondance entre temps de Quick et
taux de prothrombine (coordonnées logarithmiques)

En diluant le plasma P.I.D. avec des concentrations croissantes de plasma normal traité, nous avons les résultats consignés dans les tableaux suivants: (voir courbes 7)

TABLEAU VII

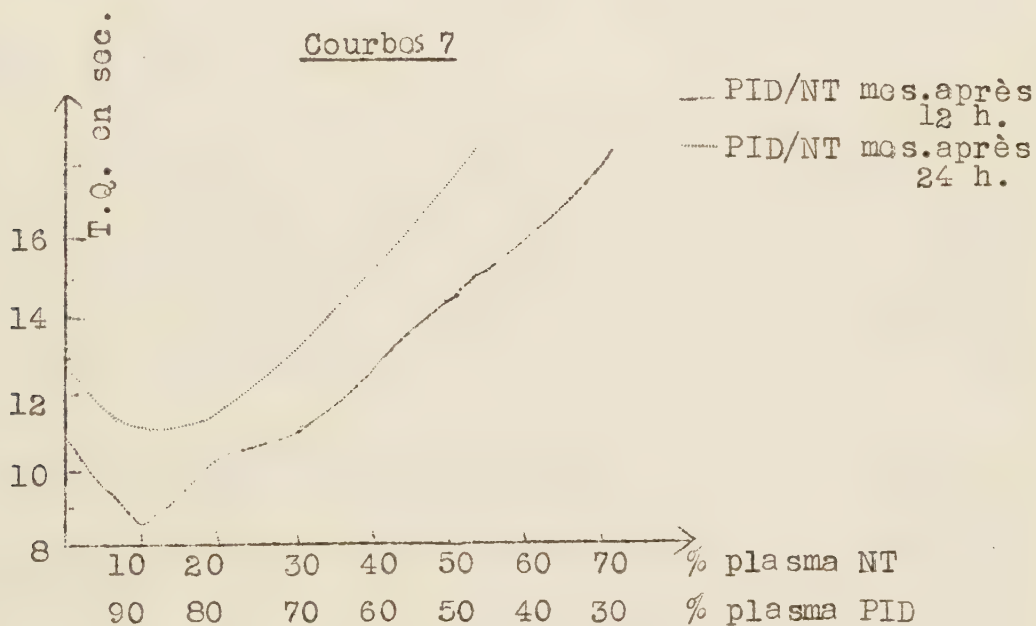
à chaque	:	100	:	95	:	90	:	80	:	60	:	50	:
plasma dans	:	0	:	5	:	10	:	20	:	40	:	50	:
mélange	:		:		:		:		:		:		:
/NT	:		:		:		:		:		:		:
TQ.	:	11"	:	9,5"	:	8,5"	:	10,5"	:	12,5"	:	14,5"	:
pré	:		:		:		:		:		:		:
% proth.	:	23	:	35	:	47	:	26	:	16	:	11	:
/NT	:		:		:		:		:		:		:
% proth.	:	23	:	22	:	21	:	18,5	:	14	:	11	:
éférence entre	:		:		:		:		:		:		:
s. et calc.	:		:	13	:	26	:	7,5	:	2	:	0	:
au facteur V)	:		:		:		:		:		:		:

Temps de Quick et taux de prothrombine du plasma PID
dilué par le plasma NT (après 12 h.)

TABIEAU VIII

% de chaque	:	100	:	90	:	80	:	60	:	50	:
plasma dans	:	0	:	10	:	20	:	40	:	50	:
le mélange	:		:		:		:		:		:
PID/NT TQ.	:	12,5"	:	11"	:	11,5"	:	15"	:	17,5"	:
mesuré	:		:		:		:		:		:
% proth.	:	16	:	23	:	20	:	10	:	8	:
PID/NT	:		:		:		:		:		:
calc. % proth.	:	16	:	15	:	13	:	9,6	:	8	:
Différence entre	:		:		:		:		:		:
% mes. et calc.	:		:	8	:	7	:	0,4	:		:
due au fact. V :	:		:		:		:		:		:

Temps de Quick et taux de prothrombine du plasma
PID. dilué par le plasma NT (après 24 heures).



Temps de Quick de plasma P.I.D. (après 12 h. et 24 h.
de traitement) dilué par le plasma NT

Nous constatons qu'à très fortes doses le P.I.D. agit non seulement sur la prothrombine, mais encore de façon nettement apparente sur le facteur V, surtout au début du traitement. Aux doses plus faibles, le facteur V n'est que peu atteint.

Pour vérifier ce phénomène, nous avons appliqué cette méthode de dosage différentiel à l'étude de plasmas de sujets humains soumis à des doses thérapeutiques de P.I.D.

CHEZ L'HOMME

Nous indiquerons ici les résultats obtenus avec 4 sujets soumis à une dose unique de P.I.D. (200 mg); le taux de prothrombine mesuré varie entre 30 et 75 % en fonction de la plus ou moins grande précocité d'action du produit.

Plasma N° I (après 24 heures) - T.Q. 36", soit 31 % de prothrombine.

Facteur V :

Proth.mesurée : 90 % plasma N° I + 10 % plasma NT → T.Q. 35", soit 33 % de proth.

Proth.calc. : $\frac{90 \times 31}{100} = (28 \%) + 0 \% \rightarrow$ T.Q. 38", soit 38 % de proth.

Facteur VII :

Proth.mesurée : 90 % plasma N° I + 10 % plasma N → T.Q. 28"; soit 48 % proth.

Proth.calc. : $\frac{90 \times 31}{100} (28 \%) + 10 \% \rightarrow$ T.Q. 22", soit 38 % proth.

Les 10 % de plasma N ajouté au plasma P.I.D. apportent en plus de 10 % de prothrombine réelle : 1°) la même quantité de facteur labile que dans la première expérience (correspondant à 5 % de prothrombine masquée), 2°) une certaine quantité d'un facteur adsorbable sur phosphate tricalcique et qui, par conséquent, faisait défaut dans la première expérience. Si sur les 10 % de prothrombine masquée de cet essai, 5 % sont redevables au facteur V, les 5 autres pour cent sont apportés par le facteur VII.

Plus on ajoute de plasma normal, plus on constate une déficience en facteur VII du plasma P.I.D.

Proth.mesurée : 50 % plasma N° I + 50 % N → T.Q. 20", soit 78 % proth.

Proth. calc. : 15 % . . . + 50 % → T.Q. 22,5", soit 65 % proth.

Ladifférence, 13 % de prothrombine masquée, est imputable au seul facteur VII, car en ajoutant 50 % de plasma NT à 50 % de plasma N° I, la prothrombine calculée et mesurée est la même. Le facteur V n'intervient plus car 50 % de plasma NT ont apporté dans le mélange un excès de facteur labile qui a compensé largement la légère déficience du plasma P.I.D. Par contre, la diminution en facteur VII est importante; il y a, en effet, 13 % de prothrombine masquée due à ce facteur.

Plasma N° 2 (après 24 heures) $\rightarrow$ 60 % prothrombine

Facteur V :

Proth. mesurée : 90 % plasma N° 2 + 10 % NT $\rightarrow$ 60 % de prothrombine
Proth. calc. : 54 % . . . + 0 % . $\rightarrow$ 54 % de prothrombine
prothrombine masquée par déficience en facteur V : 6 %

Facteur VII :

Proth. mesurée : 90 % plasma N° 2 + 10 % N $\rightarrow$ 72 % prothrombine
Proth. calc. : 54 % . . . + 10 % . $\rightarrow$ 64 % prothrombine
différence : 8 %

Le facteur VII est relativement peu touché dans cette expérience (2 % de prothrombine masquée).

Plasma N° 3 (après 24 heures) $\rightarrow$ 62 % prothrombine

Facteur V :

Proth. mesurée : 90 % plasma N° 3 + 10 % NT $\rightarrow$ 56 % prothrombine
Proth. calc. : 56 % . . . + 0 % . $\rightarrow$ 56 % prothrombine
Pas d'action sur le facteur V.

Facteur VII :

Proth. mesurée : 90 % plasma N° 3 + 10 % N $\rightarrow$ 72 % prothrombine
Proth. calc. : 56 % . . . + 10 % . $\rightarrow$ 66 % prothrombine
Il y a 6 % de prothrombine masquée due à l'action sur le facteur VII.

Plasma N° 4 (après 12 heures) $\rightarrow$ 75 % de prothrombine

Facteur V :

Proth. mesurée : 90 % plasma N° 4 + 10 % NT $\rightarrow$ 67 % prothrombine
Proth. calc. : 67,5 % . . . + 0 % . $\rightarrow$ 67,5 % prothrombine
Il n'y a pas d'action sur le facteur V.

Facteur VII :

Proth. mesurée : 90 % plasma N° 4 + 10 % N $\rightarrow$ 77 % prothrombine
Proth. calc. : 67 % . . . + 10 % . $\rightarrow$ 77 % prothrombine
Il n'y a pas d'action sur le facteur VII.

Au début du traitement, la prothrombine n'étant pas encore beaucoup abaissée, les facteurs V et VII ne sont pas touchés. Par conséquent, le P.I.D., aux doses thérapeutiques, n'a qu'une action négligeable sur le facteur V (^o); il agit contre sur la prothrombine, et semble-t-il, également sur le facteur VII, dès que la prothrombine est suffisamment abaissée.

C - INFLUENCE du TRAITEMENT au P.I.D. sur la CONCENTRATION OPTIMALE en CALCIUM NÉCESSAIRE à la MESURE du TEMPS de QUICK -

On sait depuis Arthus et Pages (II) que le calcium est indispensable à la coagulation sanguine. Le calcium, étant éliminé (par l'oxalate), la coagulation ne se produit plus, même en présence d'un excès de thromboplastine. Quick (215), utilisant sa méthode de dosage de la prothrombine, constate qu'une concentration optimale en calcium est nécessaire pour l'obtention du temps de coagulation minimum.

Jaques et Dunlop (107) signalent qu'après administration de dicoumarol, les temps de Quick des plasmas sont très sensibles aux changements de la concentration en calcium, contrairement à ce qui se passe pour les plasmas normaux.

Nous avons voulu déterminer si le P.I.D. pouvait influencer la valeur optimale de la concentration en calcium dans la mesure des temps de Quick. D'après les nombreuses données de la littérature, on peut définir ainsi la concentration optimale en calcium : pour 0,1 cm³ de plasma oxalaté (0,01 M), 0,1 cm³ de thromboplastine; 0,1 cm³ de solution de CaCl₂ 0,025M.

I - INFLUENCE des CONCENTRATIONS en CALCIUM INFÉRIEURES
la CONCENTRATION OPTIMALE -

a) Concentration optimale en Ca : 0,025M.

On expérimente sur le lapin. Après administration per os de 20 mg au Kg de P.I.D., en solution huileuse, on effectue un prélèvement de 3 cm³ de sang à la veine marginale, 10 h., 15 h., 20 h. et 40 h. après l'ingestion du produit. On établit au préalable la courbe de correspondance entre temps de Quick et taux de prothrombine, à l'aide d'un plasma de lapin normal, prélevé également à la veine marginale. Le résultat est (Tableau IX, courbe 3).

) Bjerkelund (26), par une méthode différente, trouve également au P.I.D. une action négligeable sur le facteur V

TABEAU IX

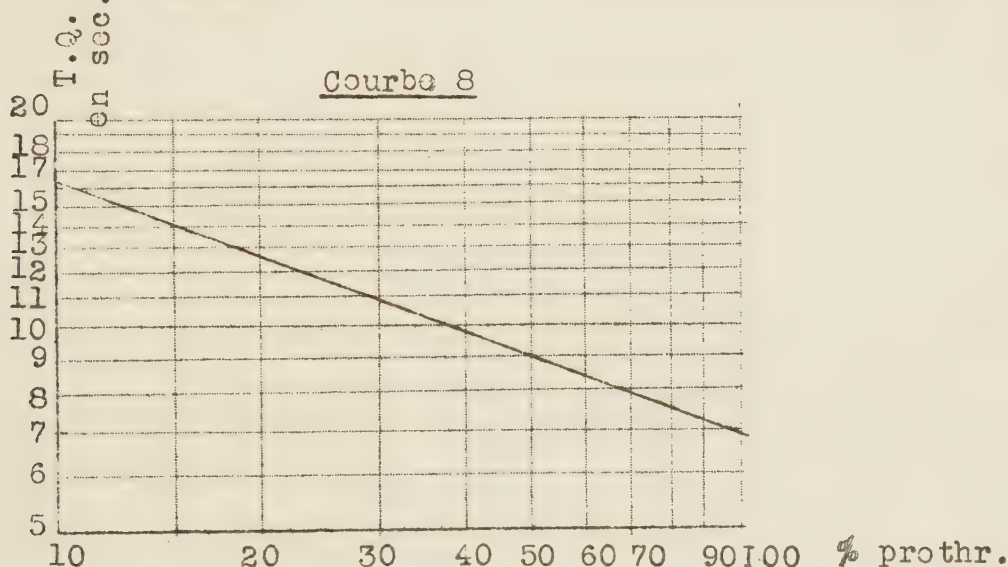
: Temps de Quick	% prothrombine :
7"	100
9"	50
12,5"	20
16"	10

Correspondance entre temps de Quick et % de prothrombine chez un lapin normal

Les résultats obtenus avec le plasma du lapin traité à P.I.D. sont les suivants :

TABEAU X

Prélèvement :	0 h.	10 h.	15 h.	30 h.	40 h.
Effectué après :					
T.Q.	7"	7,5"	9"	10"	7"
Prothromb.	100	75	50	37	100



Courbe de correspondance entre temps de Quick et taux de prothrombine (coordonnées logarithmes)

Or, la différence que nous remarquons après traitement à P.I.D. jusqu'à la 10ème heure est d'une demi seconde seulement, ce qui peut correspondre à une erreur de manipulation ou même à une variation dans l'activité de la thromboplastine. C'est pourquoi Link et Shapiro (246) préfèrent effectuer leur dosage sur des plasmas préalablement dilués à 12,5 % avec du sérum physiologique. Une faible variation dans la teneur en prothrombine se

traduit alors par des écarts élevés des temps de Quick. Cependant cette méthode a été critiquée par Deutsch et Gerards (54) puis Alexander (6) entre autres. En effet, si l'on dilue la prothrombine, on dilue également les autres facteurs de la coagulation, en particulier le fibrinogène et le facteur V. On ne se trouve donc plus dans les conditions requises pour obtenir le temps minimum. C'est pourquoi tous nos essais sont effectués sur plasma non dilué, conformément à la méthode de Quick.

b) Concentration de calcium utilisé : 0,004 M; inférieure à la concentration optima -

A cette concentration, nous avons un déficit en calcium dans le plasma étudié. En effet, alors que la concentration en chlorure de calcium 0,025 M laisse dans le plasma une concentration effective de :

$$(0,025 \text{ M} + 0,0025 \text{ M}) - 0,01 \text{ M} = + 0,0175 \text{ M}$$

Ca ajouté calcémie oxalate
 normale

Avec la concentration de 0,004 M de chlorure de calcium, la concentration effective en calcium est de :

$$(0,004 \text{ M} + 0,0025 \text{ M}) - 0,01 \text{ M} = -0,0035 \text{ M}$$

Ce déficit en calcium, s'il ne se traduit pas par un empêchement total de la coagulation, donne cependant lieu à des temps allongés par rapport aux temps obtenus avec une concentration optima en calcium.

TABLEAU XI

		N	P.I.D. après 15h	P.I.D. après 30h
Conc. Ca 0,025 M	T.Q.	7"	9"	10"
	% proth.	100	50	37
Conc. Ca 0,004 M	T.Q.	10"	15"	20,5"
	% proth.	37	12	5
Différence % prothrombine: (par rapport à 100 %) due à insuffisance en Ca		63	76	86,5

Il est intéressant de noter ici que dans le cas de déficience en calcium, les temps de Quick des plasmas P.I.D. sont plus allongés que ceux des plasmas normaux. Plus la teneur en prothrombine du plasma est faible, plus la déficience en calcium est sensible et néfaste pour une mesure correcte du temps de Quick.

2 - INFLUENCE de CONCENTRATIONS en CALCIUM SUPERIEURES à la CONCENTRATION OPTIMALE

Pour déterminer cette action, nous avons utilisé un plasma de lapin dont le taux de prothrombine était fortement abaissé : (3 administrations successives toutes les huit heures de 10 mg/Kg). Nous avons effectué les mesures du temps de Quick sur ce plasma et un plasma témoin en utilisant des concentrations en chlorure de calcium de 0,025 M à 0,075 M.

TABLEAU XII

Conc. en Ca	Plasma normal		Plasma P.I.D.	
	T.Q.	% proth.	T.Q.	% proth.
0,025 M	7"	100	16"	10
0,050 M	7"	100	16"	10
0,075 M	7"	100	24"	4

Temps de Quick de plasma en fonction de la conc.en Ca

Le plasma P.I.D. apparaît très sensible à une surcharge en calcium.

3 - Discussion

Deux faits se dégagent d'une telle étude :

I) En présence d'un excès d'oxalate par rapport au chlorure de calcium ajouté, les plasmas coagulent tout de même quoiqu'avec un certain retard. Ce phénomène peut se comprendre (Fergusson) (64) en raison du fait que la réaction oxalate - chlorure de calcium est beaucoup plus lente dans le milieu colloïdal plasmatique qu'en solution aqueuse; et par conséquent, les ions calcium ajoutés commencent par activer immédiatement la prothrombine avant d'être captés par l'excès d'oxalate. La prothrombine, une fois activée, en présence de thromboplastine, donne de la thrombine et la coagulation peut avoir lieu; cette dernière cependant est ralentie, car toute la prothrombine n'a pu être activée par manque de calcium.

2) En présence d'un excès de calcium, la mesure des temps de Quick est également perturbée, et ceci, à des concentrations d'autant plus faibles que le plasma renferme moins de prothrombine. Comment expliquer ce rôle néfaste d'un excès de calcium ?

Nous savons que la deuxième partie de la coagulation, la réaction Thrombine + fibrinogène $\rightarrow$ fibrine peut s'effectuer en l'absence de calcium; cependant de faibles concentrations en calcium ont tendance à accélérer le phénomène, alors que de plus fortes concentrations le retardent. En plus de cette action sur la thrombine, l'excès de calcium peut également empêcher l'activation de la prothrombine.

Pour Fergusson (65), il se forme un complexe prothrombino-céphalino-Ca qu'il est possible d'inactiver par décalcification, alors que l'activité de la thrombine elle-même est indépendante du Ca. Quick et Stefanini (224) mettent en doute l'intervention du Ca sous forme ionisée et expliquent eux aussi l'action anticoagulante des décalcifiants par la décalcification d'un composé essentiel à la formation de la thrombine et non comme le résultat de l'enlèvement du Ca libre dans la solution; le citrate formerait lui-même un complexe avec la prothrombine (il n'est pas possible, en effet, d'adsorber sur phosphate, la prothrombine en présence de citrate). Notre expérimentation, où nous avons coagulation même en présence de quantités insuffisantes de Ca est en accord avec les conceptions de Quick.

L'action de fortes concentrations en Ca a été moins étudiée. Pour Scheuring (237) et Ferguson (65) de fortes concentrations en Ca inhibent la formation de la thrombine alors que Miltnauer (287) ne peut démontrer aucune action définie. L'action d'un excès de Ca est-elle due à la présence d'un excès de sels neutres qui inhibent la coagulation en modifiant la stabilité des solutions de protéines ? En fait ce phénomène ne semble pas seul en cause car Von Zarday (275) a pu contrecarrer ces effets anticoagulants par addition de citrates.

Nous sommes enclins à penser que, étant donné qu'il y a moins de prothrombine et que le calcium agit suivant Quick potentiométriquement, le calcium non complexé par la prothrombine arrive plus rapidement à être en excès que dans un plasma à prothrombine normale. Nous ne pensons pas, comme l'envisage quelques uns qu'il s'agisse d'une modification des propriétés de la prothrombine par suite de l'action des hypoprothrombinémiants.

D - INFLUENCE du TRAITEMENT du P.I.D. sur le FACTEUR

ERIQUE S.p.c.a.

Parmi les facteurs d'activation de la prothrombine, nous avons signalé la présence de sérum prothrombin conversion accelerator, d'Alexander qui apparaît dans le sérum une fois la coagulation terminée. Nous avons voulu, également, déterminer l'influence du P.I.D. sur ce facteur.

I) MISE en EVIDENCE de l'APPARITION du FACTEUR SERIQUE DANS LA COAGULATION -

Techniques -

Un plasma humain oxalaté est additionné d'un volume de sérum physiologique, et d'un volume de solution de chlorure de calcium (0,025 M). Dès que la coagulation a lieu, nous enlons la fibrine formée à l'aide d'un agitateur et nous exprimons contre la paroi du tube le pâton de fibrine. Le sérum obtenu est conservé 20 minutes à 37° afin que toute la prothrombine soit transformée en thrombine et celle-ci inactivée par l'antithrombine. Le sérum est alors conservé 24 h. à + 4°, pour parfaire la destruction des deux facteurs déjà cités.

A 0,18 cm³ de thromboplastine calcique, on ajoute 0,02 cm³ du sérum ainsi préparé et on place le tube à hémolyse contenant le mélange au B.M. à 38°. Après 3 minutes, on ajoute 1 cm³ d'un plasma oxalaté déficient en prothrombine et conservé 48 h. en glacière, (T.Q. ordinaire 43", soit 28 % de prothrombine), et on met en marche un chronomètre. Dès formation d'un caillot de fibrine, on arrête le chronomètre. Le nouveau temps de Quick obtenu est de 25" (64 % de prothrombine). Ce raccourcissement intense du temps de coagulation minimum pourrait être dû à plusieurs facteurs :

- la thrombine; (l'inactivation par l'antithrombine n'ayant pas été complète) : Il n'en est rien, car le sérum utilisé, additionné à un plasma oxalaté, ne permet pas la coagulation de celui-ci.

+ la prothrombine; en effet, on sait que toute la prothrombine d'un plasma n'est pas utilisée au cours du démarrage de la coagulation. Or Quick et Favre-Gilly ont montré par leurs tests de consommation de la prothrombine que celle-ci est totalement consommée dans le sérum en présence de calcium. D'ailleurs la quantité de sérum ajouté, soit 0,007 cm³ pour 0,1 cm³ de plasma témoin, ne pourrait apporter qu'une quantité extrêmement faible de prothrombine si celle-ci n'avait pas toute disparue (au maximum 7 % de prothrombine : $\frac{0,007 \times 100}{0,1}$). Or en fait, le sérum ajouté a permis

une augmentation du taux de prothrombine de 64 % - 28 % = 36 %. Nous pouvons donc en conclure que la prothrombine n'est pas en cause.

D'ailleurs un tel sérum, si la prothrombine était vraiment en cause, aurait dû (après addition de thromboplastine calcique) promouvoir la coagulation rapide d'un plasma prothrombiné au phosphate. L'expérience nous a donné un temps de Quick plus grand que 2 h. et la coagulation au bout de ce laps de temps peut être imputable aux traces de prothrombine qui n'auraient pas été adsorbées par le phosphate.

- les facteurs V, VII et Spca. Nous avons traité le sérum précédent par le phosphate tricalcique pendant 10 minutes. Ce sérum a ensuite été utilisé pour raccourcir le temps de coagulation.

de Quick d'un plasma oxalaté déficient en prothrombine. Pour 0,02 cm³ de sérum traité ajouté, le temps de Quick passe de 43" à 39", (soit une différence de 32 % - 28 % = 4 % de prothrombine). Un nouveau traitement au phosphate n'apporte aucune nouvelle modification. Après adsorption, le sérum ne libère que 4 % de prothrombine masquée, au lieu de 36 % avant adsorption. Nous pouvons dès lors affirmer que le sérum renferme une faible fraction de facteur V non adsorbable capable de se conserver un certain temps. Mais la majorité du facteur restant, présente les caractéristiques des facteurs VI, VII ou Spca. Ce facteur du sérum serait, selon Owren (199); la convertine provenant d'un proferment du plasma, la proconvertine; la convertine et le facteur VII (58) seraient équivalents, puisque Owren comme Koller se servent de sérum pour doser ces deux facteurs. Nous préférons conserver l'opinion d'Alexander (4) : le facteur du sérum ou Spca est totalement différent des facteurs plasmatiques étant donné la très grande faculté d'activation de la prothrombine dont il est capable.

2 - INFLUENCE du P.I.D. sur le FACTEUR Spca du SÉRUM HUMAIN -

a) En fonction de la prothrombine -

Deux sujets A et B sont soumis au traitement au P.I.D. Les taux de prothrombine de leur plasma, pendant les 60 heures suivantes, sont consignés dans le tableau XIII.

TABLEAU XIII

: Plasmas :	Mesures effectuées après :						:
	: 0h. :	: 12h. :	: 24h. :	: 36h. :	: 48h. :	: 60h. :	:
: A :	90 % :	60 % :	36 % :	54 % :	78 % :	88 % :	:
: B :	86 % :	75 % :	61 % :	40 % :	50 % :	73 % :	:

A partir de ces plasmas, on prépare, comme il a été indiqué précédemment, les sérums A₁A₁B₁ (faits à partir du plasma après 24 H. de traitement par le P.I.D.) A₂ et B₂ (après 36 H.), A₃ et B₃ (après 48 h.) et A₄ et B₄ (après 60 h.). On mesure ensuite l'action raccourcissante de 0,02 cm³ de chacun de ces sérums sur un plasma de temps de Quick 43", comme il a déjà été décrit plus haut. Les résultats sont les suivants :

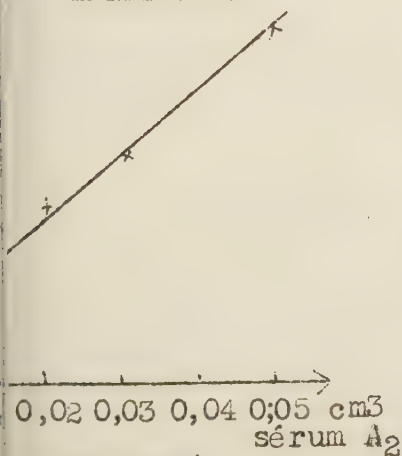
(Tableau XIV, courbes 9)

Sérums ajoutés au plasma	T. Q.	% proth.	'diff.% 'proth. 'due au 'Spca (°)	'augm.% 'proth. 'due au 'Spca	'augm. 'rappor- 'tée à '100 %
Sérum physiologique	'43"	' 28	' 0	'	'
Sérum témoin	'25"	' 64	' 36	' 128	' 100
Sérum témoin traité au phosphate	'39"	' 32	' 4	' 14	'
Sérum A ₁	'28"	' 54	' 26	' 90	' 70
Sérum A ₂	'23"	' 72	' 40	' 157	' 122
Sérum A ₃	'28"	' 54	' 26	' 92	' 70
Sérum A ₄	'25,5"	' 61	' 33	' 120	' 93
Sérum B ₁	'28"	' 54	' 26	' 92	' 70
Sérum B ₂	'29"	' 50	' 22	' 78	' 61
Sérum B ₃	'22,5"	' 75	' 47	' 168	' 131
Sérum B ₄	'26,5"	' 58	' 30	' 107	' 83

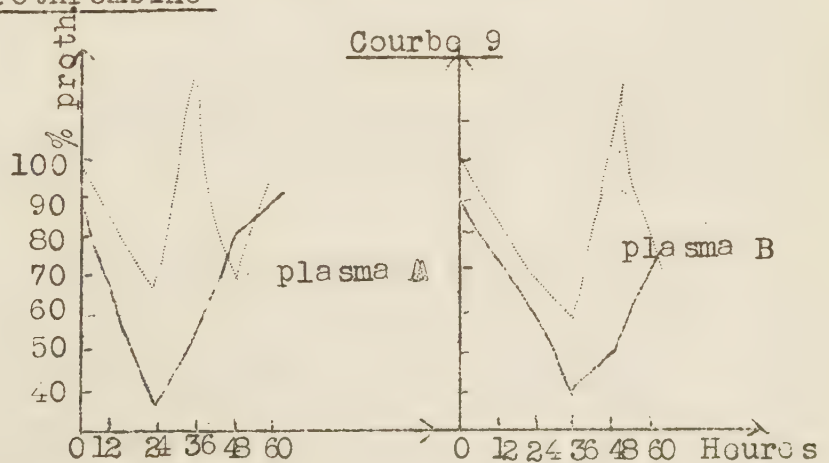
) Nous ne tenons pas compte de la faible influence du facteur encore présent dans le sérum, et dont la valeur est presque toujours la même dans les différents sérums.

Influence de différents sérums sur un plasma dont
le temps de Quick est très allongé, par défici-
cience de prothrombine

Courbe 10



Courbe 9



— variation de la prothrombine au cours du traitement au P.I.D.
— augm. de la prothrombine sous l'influence de sérum de sujets traités par le P.I.D. —

D'après ces données, nous pouvons constater que c'est lorsque la teneur en prothrombine est la plus faible, par suite de l'action du P.I.D., que le sérum correspondant renferme le moins de Spca. Alexander (5) dans le cas du dicoumarol a noté également une baisse concomitante de la prothrombine et du facteur sérique Spca. Dès que l'action du P.I.D. commence à diminuer, on remarque une augmentation notable du Spca. Ensuite l'activité du facteur sérique diminue à nouveau; mais dès que la prothrombine atteint son taux normal, la valeur du Spca redevient équivalente à celle du témoin.

b) Stabilité du Spca dans les différents sérums étudiés.

Nous avons voulu déterminer si le Spca se conservait au sein du sérum sans détérioration. Les sérums de l'expérience précédente ont donc été conservés pendant 48 H. en glacière à -5° . Puis ils ont été essayés à nouveau, vis-à-vis d'un plasma de Temps de Quick 46". En comparant ces valeurs à celles consignées dans le tableau précédent, nous constatons que ce facteur est stable en glacière. Il semble donc qu'il soit identique au facteur stable de Owen et qu'il soit différent du facteur VI. (comparer Tableaux xv et xiv)

TABLEAU XV

sérums ajoutés au plasma	T. Q."	%proth	Diff.(du 'au Spca)
sérum physiologique	46"	26	
sérum A ₁	29"	51	25
sérum A ₂	24"	68	42
sérum B ₁	29"	51	25
sérum B ₂	31"	46	20

Influence de différents sérums après conservation 48 H. en glacière sur un plasma dont le temps de Quick est très allongé.

c) Proportionnalité dans l'action du Spca

Nous avons voulu savoir si le raccourcissement des temps de Quick sous l'influence du Spca obéissait à une relation quantitative ou bien si la réaction était catalytique. C'est pourquoi des quantités croissantes du sérum A₂ ont été ajoutées à un même plasma.

Les résultats sont consignés dans le tableau, ^{xvi} page vivante et dans la courbe 10. p. 86.

TABLEAU XVI

plasma	sérum	'thrombopl'	'calcique	T.Q.	'%prothr.	'diff. (due au Spca)	'augm. (%proth (due au Spca)
1 cm ³	'0,03 cm ³ 'sér.physio.	'0,17 cm ³	'46"		26		
"	'sér. Δ ₂ '0,01' cm ³	'0,19	'30"		49	23	90
"	'0,02	'0,18	'24"		68	42	160
"	'0,03	'0,17	'22		77	51	200
"	'0,05	'0,15	'17,5"		108	82	315

Influence de quantités croissantes d'un sérum sur un plasma dont le temps de Quick est très allongé (par déficience de prothrombine.)

L'augmentation du taux de prothrombine varie sensiblement de façon proportionnelle à la quantité de sérum ajouté.

d) Importance du facteur V dans la manifestation de l'action du Spca.-

Nous avons constaté que ces sérums ajoutés à des plasmas ayant perdu la plus grande partie de leur facteur V par adsorption, ne raccourcissaient, dans ces conditions, que très faiblement le temps de Quick.

La présence de facteur V est donc indispensable à la manifestation de l'activité du Spca.

Il importe donc, pour étudier de façon convenable l'action du Spca de se placer dans des conditions telles que le facteur V soit toujours en quantités convenables.

3 - Conclusions.-

Il ressort de ces expériences que sous l'effet du D., alors que le taux de prothrombine réelle est abaissé, la teneur en Spca du sérum correspondant subit une diminution concomitante. Cependant au moment de la remontée du taux de prothrombine, une brusque remontée du Spca a lieu; mais ce n'est que lorsque la prothrombine est redevenue normale, que le Spca se normalise également.

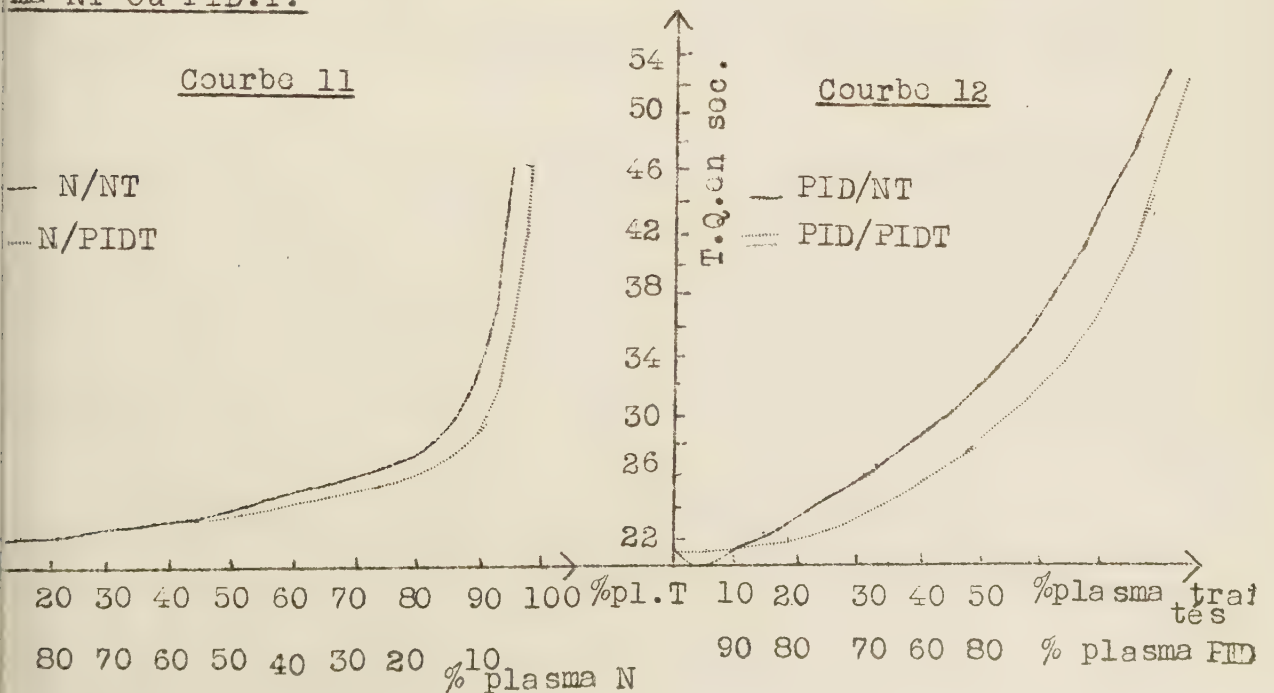
INFLUENCE du TRAITEMENT au P.I.D. sur l'ANTITHROMBINE du PLASMA.

Comme dans l'étude des plasmas reconstitués (voir P. 70. suivantes), nous avons dilué le plasma normal de lapin: plus avec le plasma normal traité au phosphate, mais le plasma P.I.D. déprothrombiné dans les mêmes conditions. Nous avons comparé les deux courbes obtenues N - NT N - PID.T. et les courbes PID - NT et PID - PID.T. (Tableau XVII, Courbes 11 et 12)

TABLEAU XVII

	100	90	80	50	30	20	10	4	0
	0	10	20	50	70	80	90	96	100
8"	8"	8,5"	10"	12"	14"	18,5"	31"		
8"	8"	8,5"	10"	11,5"	12,5"	15"	25"		
21"	21"	23,5"	33,5"	44"	52"				
21"	21,5"	22,5"	28,5"	37"	47"	72"			

s de Quick de plasma N et de plasma P.I.D. dilués avec le ma NT ou PID.T.



Nous constatons un raccourcissement des temps de Quick lorsqu'on dilue le plasma P.I.D. avec du P.I.D. traité au bouillon de plasma NT. En fait, nous nous serions plutôt attendus des allongements des temps de Quick, le plasma P.I.D. T étant légèrement déficient en facteur labile. Ce raccourcissement des temps de Quick apparaît d'ailleurs seulement aux grandes dilutions alors que les taux de prothrombine sont faibles. Ce résultat ne peut se comprendre que par la présence dans le plasma NT d'un inhibiteur de la coagulation, en plus grande proportion que dans le plasma P.I.D. T. Nous penchons à croire que c'est l'antithrombine normale du plasma, laquelle aurait diminué du fait du traitement au γ P.I.D. C'est pourquoi, nous avons étudié de façon plus approfondie l'antithrombine progressive du plasma.

- NATURE de l'ANTITHROMBINE.

Un sérum frais est capable de coaguler un plasma défibriné ou une solution de fibrinogène par suite de sa richesse en thrombine, par contre, un sérum vieilli est dépourvu de toute propriété coagulante. Au sein du sérum, des quantités importantes de thrombine sont neutralisées par l'antithrombine. En suite de la formation d'un complexe inactif, la métathrombine.

Des auteurs (217) (294) émettent l'hypothèse que le rôle physiologique de l'antithrombine est de neutraliser les petites quantités de thrombine formées à l'intérieur des vaisseaux. Or, la réaction thrombine-fibrinogène est beaucoup plus rapide que la réaction thrombine-antithrombine et la totalité du fibrinogène serait coagulée en fibrine avant que l'antithrombine ne commence à inactiver la thrombine restante (217) c'est bien ce qui a lieu puisque l'antithrombine du plasma ne modifie pas les temps de coagulation et de prothrombine des plasmas entiers.

Par contre, si on dilue un plasma avec un plasma déprothrombiné (diminution de sa concentration en thrombine), la formation de fibrine, au cours de la coagulation, se fait plus lentement alors que l'inactivation de la thrombine s'accroît. A partir d'une concentration limite, toute la thrombine sera inactivée par l'antithrombine avant d'avoir pu transformer le fibrinogène en fibrine. C'est pourquoi on peut admettre que, au cours de la coagulation d'un plasma dilué, la concentration en antithrombine puisse influencer le temps de coagulation.

L'activité antithrombique réside intégralement dans la fraction albuminique des plasma et sérum (219)(216); cependant, la sérum-albumine cristallisée en est dépourvue.

METHODES de DOSAGES de l'ANTITHROMBINE.

La méthode de Astrup et Darling (12) consiste à incuber à 37°, 1 cm³ de solution de thrombine standard et des concentrations croissantes de sérum. Au bout de 15 minutes, on mesure le pouvoir coagulant du mélange et on en déduit la quantité de thrombine neutralisée.

Nous avons préféré utiliser une méthode cinétique, déjà employée par Stéfani (261) puis par Gérendas (81). La technique expérimentale est la suivante :

Les plasmas à étudier sont recueillis sur oxalate. Puis nous les défibrinons par addition d'une quantité faible mais constante de thrombine. Après incubation de 2 heures à 37° la fibrine formée est enlevée à l'aide d'un agitateur. Nous avons vérifié que dans tous nos essais le fibrinogène a été éliminé entièrement : l'addition d'un excès de thrombine à une partie aliquote de ces plasmas ne provoque aucune nouvelle apparition de fibrine après 2 h. à 37°. De même nous avons vérifié que la thrombine initiale avait entièrement disparu, ces mélanges n'étant pas capables de coaguler une solution de fibrinogène pur.

Ces contrôles effectués, le plasma défibriné est prêt pour le dosage de l'antithrombine.

On le met en contact avec une solution standard fraîche de thrombine et toutes les minutes on note le temps de coagulation d'une solution standard de fibrinogène additionnée du mélange. Plus le temps de contact entre la thrombine ajoutée et le plasma défibriné augmente, plus l'antithrombine inactive la thrombine; aussi, chaque mesure du temps de coagulation du fibrinogène correspond en fait à la mesure du temps de coagulation dû à la thrombine restante (non encore inactivée) en présence d'une concentration fixe de fibrinogène.

Pratiquement, on opère de la façon suivante : on place dans un Bain-marie à 38° une série de tubes à hémolyse contenant chacun 0,1 cm³ d'une solution de fibrinogène à 5%, un tube contenant la solution de thrombine standard, (44 mg thrombase russelsdls1cm³) ~~et un~~ tube contenant le plasma défibriné. Au temps 0 d'un chronomètre, on ajoute, dans un nouveau tube, à 1 cm³ du plasma, 1 cm³ de la solution de thrombine et on agite vigoureusement.

Après 30 secondes, on ajoute à la pipette le plus rapidement possible (en soufflant) 0,2 cm³ du mélange à l'un des tubes de fibrinogène préparés précédemment, tout en mettant en marche un deuxième chronomètre. Sur ce dernier chronomètre, on lit le temps de coagulation obtenu. Après une minute de contact entre la thrombine et le plasma, on recommence la même opération et on note le nouveau temps de coagulation obtenu. On continue l'expérience 5 minutes en effectuant des mesures toutes les minutes.



La courbe des temps de coagulation en fonction du temps contact thrombine-plasma donne la vitesse d'inactivation de thrombine ajoutée, par l'antithrombine du plasma.

On peut exprimer cette vitesse d'inactivation en % de thrombine en comparant les temps de coagulation obtenus dans des conditions à ceux donnés par des quantités décroissantes de thrombine pour la même concentration de fibrinogène (Tableau XVIII).

a) (- Influence de la concentration en fibrinogène et thrombine.-

On remarque bien vite que la vitesse d'inactivation de thrombine ajoutée à un plasma défibriné ou à un sérum pour lesquels la concentration en antithrombine reste constante, est toute relative et que cette vitesse est fonction de la quantité de thrombine ajoutée.

TABLEAU XVIII

Variation du temps de coagulation en fonction de la teneur en thrombine

Concentration thrombine (°) en %	Temps de coagulation en secondes
100	9
90	9,5
80	11
70	12
60	13,5
50	15,5
40	18,5
30	23,5
20	31
10	46
5	67

(°) - 100 % de thrombine correspondent à 4,4 mg (thrombine Roussel) dans 0,1 cm³ (Substrat = fibrinogène 5 % Armour.)

TABEAU XIX

Temps de coagulation mesuré après :	Temps de coagulation en secondes	
	Substrat :	
	fibrinogène 4 ‰	plasma (4‰ en fibrinogène)
1/2 minute	10	10
1 "	11	13
2 minutes	22	24
3 "	42	45
4 "	70	75

Influence du substrat (fibrinogène ou plasma) dans la mesure de l'activité antithrombine d'un plasma humain débriné.

TABEAU XX

Temps de coagulation mesuré après	Temps de coagulation en sec.	
	plasma	sérum
1/2 minute	10	9
1 "	13	9,5
2 minutes	24	12
3 "	45	15
4 "	75	19
5 "		24
6 "		32

Activité de l'antithrombine d'un plasma humain et du sérum correspondant (°)

- Le substrat de ces essais est du plasma traité au phosphate (4 ‰ en fibrinogène).

La réaction thrombine-fibrinogène variant également en fonction du pH et de la température, comme l'ont montré de nombreux auteurs, il est indispensable pour doser correctement l'antithrombine d'un plasma ou d'un sérum, d'utiliser la même concentration en thrombine standard, et en fibrinogène; maintenir la température à 38° et le pH au voisinage de la neutralité.

b) - Comparaison entre différents substrats, sources
fibrinogène.

L'utilisation d'une solution de fibrinogène comme substrat présente un grave inconvénient. On ne peut pas, en effet, préparer une solution standard utilisable constamment, une solution de fibrinogène abandonnée à elle-même coagule spontanément; on explique ce phénomène par la présence d'une certaine proportion de profibrine ou fibrine soluble qui s'insolubilise à la longue. Par centrifugation, on récupère bien une solution de fibrinogène sans profibrine, mais la teneur en fibrinogène a varié.

C'est pourquoi il est préférable d'utiliser comme substrat un plasma décalcifié dont la teneur en fibrinogène est constante. Mais encore faut-il vérifier que la présence dans le plasma substrat d'autres facteurs que le fibrinogène, n'apporte pas des modifications à la réaction antithrombine-thrombine.

Nous avons comparé un plasma humain frais dont la concentration en fibrinogène était de 4 % et une solution de fibrinogène qui, après élimination de la profibrine, était de concentration équivalente. Les temps de thrombine des deux substrats vis à vis de la solution standard de thrombine étaient alors identiques, soit 10 secondes. (Tableau XIX).

Avec ces deux sources de fibrinogène, nous avons constaté, (Tableau XIX) que la vitesse d'inactivation de la thrombine par un plasma humain (Quick 20 secondes) défibriné était nettement plus grande suivant que l'on utilisait pour sa mesure un plasma au lieu d'une solution de fibrinogène comme substrat.

Des différences du même ordre s'obtiennent, dans les mêmes conditions, dans la mesure de l'antithrombine d'un plasma de lapin normal et d'un sérum de lapin normal, avec comme substrats le plasma ou une solution de fibrinogène (Tableau XXIV)

Cette différence se conçoit du fait que le plasma substrat apporte une petite quantité d'antithrombine d'autant plus élevée que la quantité de thrombine restante est plus faible. Il est à noter que les mêmes essais effectués avec comme substrat le plasma traité au phosphate tricalcique nous donnaient les mêmes résultats qu'avec le plasma non traité : ce qui montre que dans nos conditions expérimentales :

1° que l'antithrombine n'est pas adsorbable par le phosphate tricalcique,

2° que ni la prothrombine ni la thromboplastine, ni les facteurs VI et VII du substrat tous adsorbables au phosphate ne s'interviennent dans cette réaction.

Par conséquent, on peut utiliser comme substrat pour la détermination de l'activité antithrombine, un plasma frais oxalaté, traité 10 minutes au phosphate tricalcique, l'action inhibitrice antithrombine pouvant être négligée puisque constante dans toutes les mesures.

3 - VARIABILITE du TAUX d'ANTITHROMBINE en FONCTION % en PROTHROMBINE et en FACTEUR V.-

L'activité antithrombine est augmentée physiologiquement durant certaines formes thrombotiques d'angiopathies (208) et au cours d'ictères par rétention (273). Volkert (272) a montré expérimentalement chez le lapin que le taux d'antithrombine augmente progressivement après injection intraveineuse de blanc d'oeuf ou de sérum de cheval, ce phénomène étant pas une réponse immunologique puisqu'on l'obtient également avec la gélatine ou l'amidon. Par contre, l'injection d'encre de Chine diminue légèrement l'antithrombine. In vitro, l'addition d'encre de Chine ou de chloroforme à du sang, diminue sa teneur en antithrombine.

Nous avons voulu déterminer s'il y avait une corrélation entre la teneur en prothrombine et en facteur V d'une part et l'activité antithrombine d'autre part. C'est pourquoi nous avons en premier lieu comparé un plasma frais défibriné à 100 % de prothrombine, et de facteur V, et son sérum correspondant à 0 % de prothrombine et de facteur V. Nous constatons que l'action antithrombine d'un plasma humain défibriné est bien plus importante que celle de son sérum (Tableau I). Ce résultat, déjà obtenu par Owen et Bollmann (196) à l'aide d'une autre méthode de dosage pouvait à priori nous faire croire à l'influence de la prothrombine ou du facteur V sur la teneur en antithrombine.

C'est pourquoi nous avons comparé

l'activité antithrombine d'un plasma humain frais oxalaté, défibriné, et du même plasma, après traitement au phosphate tricalcique, qui laisse intact le facteur V,

l'activité antithrombine d'un plasma humain frais défibriné et du même plasma après conservation de 10 jours à + 4° (ce qui a eu pour effet d'augmenter le temps de Quick de 20 secondes à 25 secondes par suite d'une perte de facteur labile, la prothrombine restant constante).

) Action antithrombine d'un plasma humain avant et après traitement au phosphate.-

Pratiquement l'activité antithrombine est identique et ne dépend pas de la teneur en prothrombine (Tableau XXI).

TABLEAU XXI

Temps de coagulation mesuré après	Temps de coagulation en sec.	
	Teneur en prothrombine	
	100 %	0 %
1/2 minute	10	10
1 minute	13	13,5
2 minutes	24	25
3 minutes	45	46
4 "	75	76,5

Variation de l'antithrombine d'un plasma en fonction de sa teneur en prothrombine

Substrat = plasma humain 4 % en fibrinogène

- Action antithrombine d'un plasma humain frais et d'un plasma conservé.-

TABLEAU XXII

Temps de coagulation mesuré après	Temps de coagulation en sec.	
	plasma frais	plasma conservé
1/2 minute	10	11
1 minute	13	14
2 minutes	24	27
3 "	45	49
4 "	75	80

(°)

Variation de l'antithrombine d'un plasma en fonction de la conservation

(°) le substrat utilisé pour ces mesures est un plasma humain (4 % en fibrinogène).

Nous constatons une légère augmentation de l'effet antithrombine dans le plasma conservé (Tableau XXII). Donc, il semblerait que moins il y a de facteur labile, plus l'activité antithrombine soit grande. Il n'en est rien cependant. En effet, en comparant le plasma humain au plasma de lapin (lequel contient 50 fois plus de facteur labile que le plasma humain), nous constatons que c'est le plasma de lapin qui possède la plus grande activité antithrombine. D'ailleurs, Stefa-
ni (2°1)

ni (261), en observant le même phénomène, se garde bien de
 or l'activité antithrombine à la teneur en facteur labile.
 semblerait donc que l'antithrombine soit aussi indépendante
 facteur labile que l'est la diminution concomitante du
 plément pendant la conservation des plasmas (Mann et Hurn) (142)

Comment se fait-il, dès lors, que le sérum ait une
 neur moindre en antithrombine que le plasma correspondant
 isqu'on sait que les albumines sériques, supports de l'acti-
 té antithrombine, n'interviennent pas dans la coagulation
 oprimement dite et se retrouvent intactes dans le sérum ? Il
 ut nous rallier à l'opinion de Owen et Bollmann (196) selon
 squels, le sérum a moins d'antithrombine que le plasma parce
 'une partie des albumines sériques a déjà été utilisée pour
 inactivation de la thrombine formée au cours de la coagula-
 on. Ce stock résiduel d'antithrombine est dès lors abaissé.

L'activité antithrombine est donc indépendante des au-
 es facteurs de la coagulation mais l'administration d'une
 ogue anticoagulante telle que le dicoumarol ou le P.I.D.
 peut-elle pas influencer, en plus de la teneur en prothrom-
 ine, également l'activité de l'antithrombine ?

Nous avons en premier lieu étudié l'influence du
 coumarol.

- ACTION ANTITHROMBINE d'un PLASMA HUMAIN DEFIBRINE et
SÉRUM CORRESPONDANT APRES TRAITEMENT au DICOUMAROL (proth-
bine 24 %). -

Dans cet essai, le substrat utilisé est une solution
 aîche de fibrinogène de boeuf Armour, 15 mg dans 5 cm³
 solution physiologique (3 %) (la profibrine n'ayant pas
 é éliminée). Nous constatons (Tableau XXIII) que le dicou-
 rol qui a pourtant diminué la prothrombine n'a pas modifié,
 r rapport à la normale, la teneur en antithrombine du
 asma. Cependant, le sérum provenant du plasma au dicoumarol
 enferme une quantité d'antithrombine bien plus importante
 e le sérum normal et assez proche de la valeur du plasma
 rrespondant. Ce dernier phénomène peut s'interpréter de la
 on suivante : le plasma au dicoumarol renfermant peu de
 rothrombine, il en résulte, au cours de la coagulation,
 apparition d'une faible quantité de thrombine, laquelle ne
 uit que faiblement la concentration en antithrombine. Il
 t donc normal que le sérum au dicoumarol renferme une quan-
 té presque aussi élevée d'antithrombine active que le plas-
 normal. Nous pouvons conclure de ces expériences qu'il
 existe aucune corrélation entre la prothrombine et l'anti-
 rombine, le ferment de la coagulation ayant été éliminé
 tificiellement (phosphate) ou physiologiquement, par
 intermédiaire du dicoumarol.

TABEAU XXIII

Temps de coagulation mesuré après	Temps de coagulation en secondes			
	plasma normal	plasma au dicoumarol	sérum normal	sérum au dicoumarol
	100 % proth!	24 % proth!		
2 minute	12	11	11	10,5
1 "	17	17	12	15,5
2 minutes	37	37	19	33
3 "	73	71	26	65

Activité de l'antithrombine d'un plasma humain et de son
sérum et d'un plasma humain et de son sérum après traite-
ment au dicoumarol

Substrat = fibrinogène Armour 3 %

- ACTION du P.I.D. sur l'ANTITHROMBINE IN VIVO chez le
PIN.-

L'épreuve a été effectuée vis à vis de 2 substrats distincts:
fibrinogène 4 % et plasma humain.

TABEAU XXIV

Temps de coagulation	Temps de coagulation en secondes							
	Substrat :							
	Fibrinogène (4 %)		Plasma humain (4 % en fibrinogène)					
	plasma normal	plasma au PID	sérum normal	sérum auPID	plasma normal	plasma au PID	sérum normal	sérum auPID
min.	9,5	9,5	9	8,5	12	12	10	10
"	13	11	11	10	17	15	13	14
"	26	20	19	19	32	23	22	24
"	44	32	28	29	52	33	33	35
"	67	42	36	38	74	43	42	44

Activité de l'antithrombine d'un plasma et d'un sérum de
lapin normal et de lapin traité au P.I.D.

L'examen du tableau XXIV permet de constater que dans
le cas du P.I.D. et dans le cas du dicoumarol, les
actions antithrombine du plasma au P.I.D. et de son sérum sont

le même ordre, ce qui démontre une fois de plus que quand la prothrombine est basse dans le plasma, le sérum obtenu après coagulation renferme presque intacte la totalité de l'activité antithrombine préexistante. Mais, à l'encontre du dicourol, le P.I.D. a légèrement réduit l'antithrombine plasmatique progressive, puisque cette dernière est moins active que dans le plasma normal.

Il semble donc qu'au cours du traitement au P.I.D., un freinateur des albumines sériques soit apparu au sein du plasma aussi bien qu'au sein du sérum.

Etant donné les résultats expérimentaux obtenus d'une part et d'autre part, le fait que les plasmas et les sérums après traitement au P.I.D. sont teintés de rouge, nous nous sommes demandés si le freinateur en question n'était pas tout simplement dû P.I.D. qui serait passé dans le sang. Cela paraissent d'autant plus plausible que, si on ajoute au sérum une solution aqueuse du sel de Na du P.I.D., la solution rouge obtenue a une activité antithrombine moindre que celle du même sérum dans les mêmes conditions de dilution (tableau XXV).

TABLEAU XXV

Temps de coagulation mesuré après :	Temps de coagulation en sec.	
	sérum normal	sérum + P.I.D.
1/2 minute	10 (°)	10 (°°)
1 "	11	11
2 minutes	15	14
3 "	22	19
4 "	32	27
5 "	47	37

Activité de l'antithrombine d'un sérum normal et d'un sérum additionné de P.I.D. in vitro (*)

- (°)- sérum humain (0,09cm³)+H₂O (0,01 cm³) + thrombine (0,1cm³)
 (°°)-sérum humain (0,09cm³)+solution PID (0,01cm³ 1mg. par 1 cm³ de plasma) + thrombine (0,1cm³)

(°) - La concentration de P.I.D. utilisé est : 0,01 %

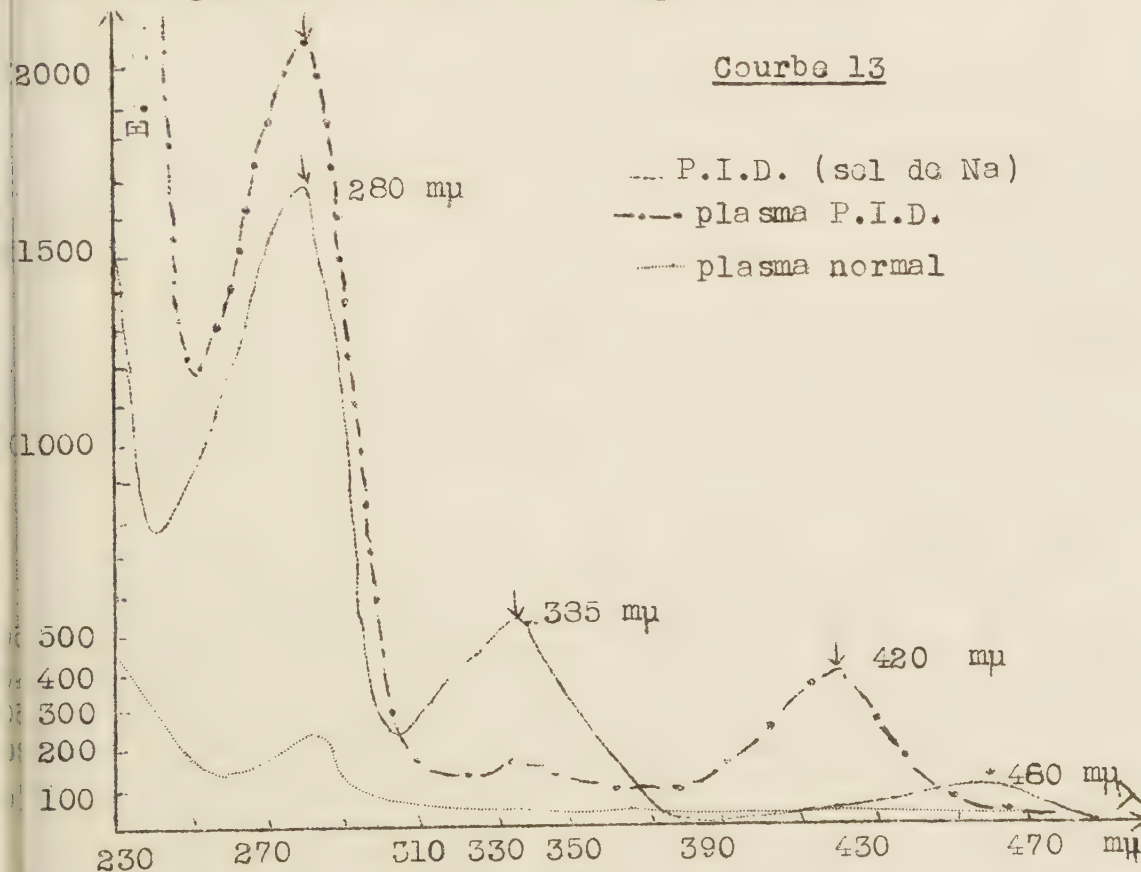
Pour essayer d'élucider le problème, nous avons entrepris une étude spectrophotométrique des différents plasmas étudiés.

F - ETUDE SPECTROPHOTOMETRIQUE de PLASMA de LAPIN TRAITÉ au P.I.D.

L'appareil utilisé est le spectrophotomètre de Beckman, modèle DU. Le solvant, sauf mention spéciale, est de l'eau distillée. Une solution neutre de P.I.D. dans l'eau donne un spectre caractéristique à 3 maxima : 280, 335, et 420 mμ, le troisième étant assez peu marqué.

Si nous ajoutons 0,5 cm³ de plasma de lapin normal à 10 cm³ d'eau, le spectre obtenu montre une bande caractéristique des acides aminés absorbants en lumière U.V. : tryptophane et tyrosine.

Examinons, dans les mêmes conditions de dilution, le plasma d'un lapin traité au P.I.D., dont le taux de prothrombine est abaissé à 8 %; on voit apparaître les deux bandes caractéristiques du P.I.D. à 280 et 335 mμ mais la bande à 460 mμ a disparu; on trouve également un maximum à 420 mμ à l'hémoglobine par suite d'une légère hémolyse.



Remarquons que le plasma au P.I.D. après traitement au phosphate tricalcique présente le même spectre qu'avant l'absorption (max. à 335 et 420 mμ); ce n'est donc ni la prothrombine ni la thromboplastine, ni le Spea ou facteur V qui sont responsables des modifications spectroscopiques observées. Il semble donc que le plasma contienne un corps

veau dont le maximum est à 535 mμ qui n'est plus du P.I.D. s un produit de transformation de celui-ci, peut-être un plexe avec une protéine plasmaticque.

D'autre part, nous avons déjà signalé que le plasma P.I.D. avait un pouvoir antithrombine légèrement réduit - nous croyons que le P.I.D. se complexant à une partie des unines plasmaticques en diminue d'autant l'activité anti-ombine. Nous avons chorché à vérifier cette hypothèse. Or P.I.D. est un dérivé dicétonique se comportant comme un de et donnant des sels de Na, K etc... Des recherches tes récentes ont montré :

que les dicétones étaient capables de se complexer à l'albumine puisque leur activité antibactérienne en était réduite dans de telles conditions (236 Bis)

que parmi les protéines plasmaticques (122), (globulines et albumines) seules les albumines étaient capables de complexer facilement les anions organiques.

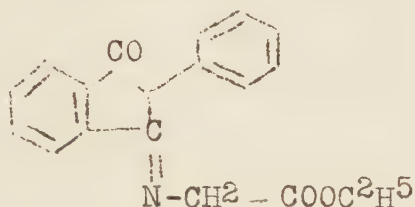
C'est ainsi que les acides gras, le caprylate de Na, dodocyl-sulfate de Na, le méthylorange etc... sont ca- les de se combiner aux albumines par l'intermédiaire des upements NH_2 dans leurs acides aminés. De plus, Weber et chsler (284 bis) en utilisant comme anions l'acide ascor- ue et la 2-méthyl-naphtehydroquinone sulfate ont réduit vitro l'activité antithrombine du sérum.

Donc pour vérifier l'hypothèse de combinaison possible re le P.I.D. et les albumines sériques, nous avons chorché aire réagir le P.I.D. et les acides aminés purs pour compa- les spectres d'absorption des combinaisons éventuelles e le spectre déjà relevé dans le plasma de lapin traité P.I.D.

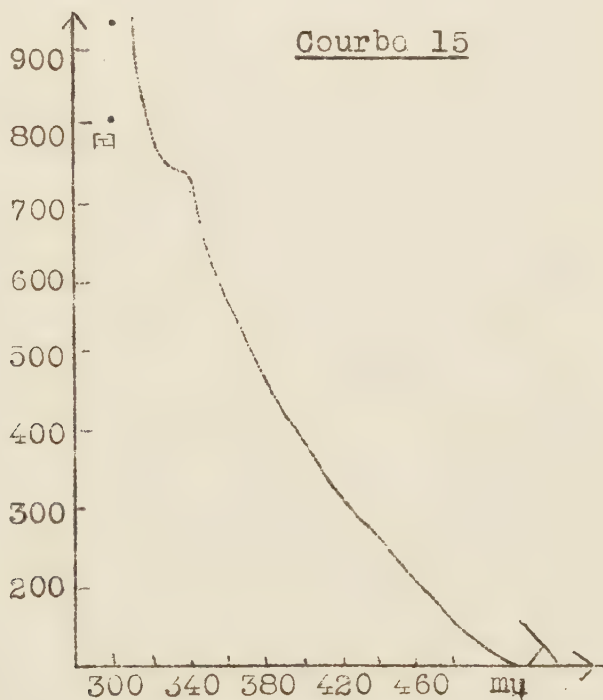
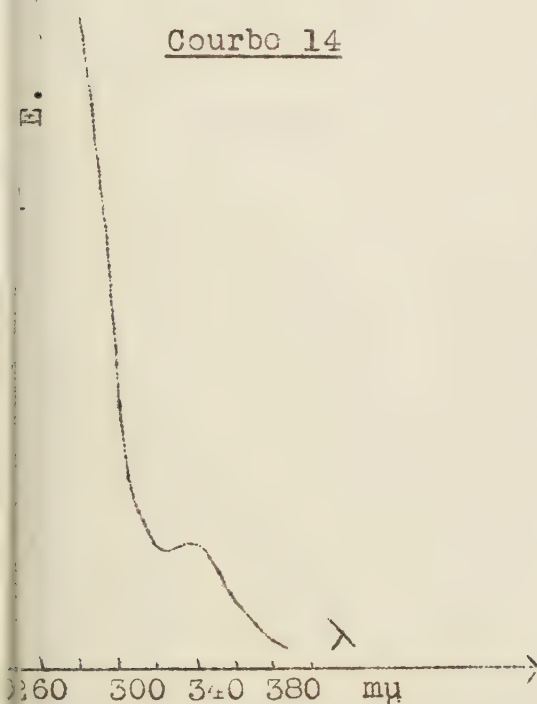
On met en contact, dans les conditions les plus pro- s du milieu sanguin, une solution de sel de Na de P.I.D., un excès de cystéine on orlon bouché à l'étuve à 37°. bout de 24 h., on peut isoler d'une part du P.I.D. (après dification du mélange, F. 145°), d'autre part de la cys- e (F. 320°). Ce résultat négatif quant à la possibilité de plexe entre P.I.D. et cystéine nous montre que le P.I.D. est comporté comme oxydant vis à vis de la cystéine.

L'expérience est alors recommencée avec le glyccolate nthyle. Un tel acide aminé, dont la fonction acide libre e bloquée, rend possible la séparation du produit réaction- qui ne doit plus avoir le caractère acide du P.I.D. en ès. Nous avons donc dissous le chlorhydrate de glyccolate nthyle dans un peu d'eau distillée et l'avons ajouté en ntité équimoléculaire à une solution alcoolique de P.I.D. porte au B.M. vers 50° pendant 3 à 4 h. puis on chasse alcool sous vide, on alcalinise à la soude le mélange rési- l et on extrait à l'éther. Le milieu aqueux rouge après

idification a permis de récupérer le P.I.D. qui n'avait
s réagi, mais la solution étherée concentrée et reprise par
l'alcool a laissé cristalliser des prismes couleur crème
ndant à 86°, avec un rendement assez faible.



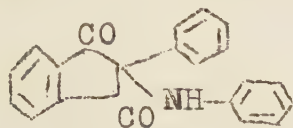
Le spectre de cette substance dans l'alcool révèle la
présence d'un unique maximum à 335 mμ et la disparition des
ondes caractéristiques du P.I.D. à 280 et 460 mμ. (courbe 14)



Ce spectre tout à fait comparable à celui obtenu
pour le plasma de lapin traité au P.I.D. est en accord avec
es données de Hantzsch (88) pour qui la présence de 3 ma-
ama dans l'U.V. est caractéristique de la seule forme éno-
lique des indanédiones.

Nous avons également préparé une forme dicétonique
paie de condensation avec un groupement aminé en nous ins-
rant de la technique de Wanag et Wolbe (280). On chauffe

la molécule de bromo-2 phényl-2 indanodione-1,3, avec 2 molécules d'aniline au sein de l'alcool. On isole après recristallisation dans l'alcool une substance jaune (F.175°) de formule :

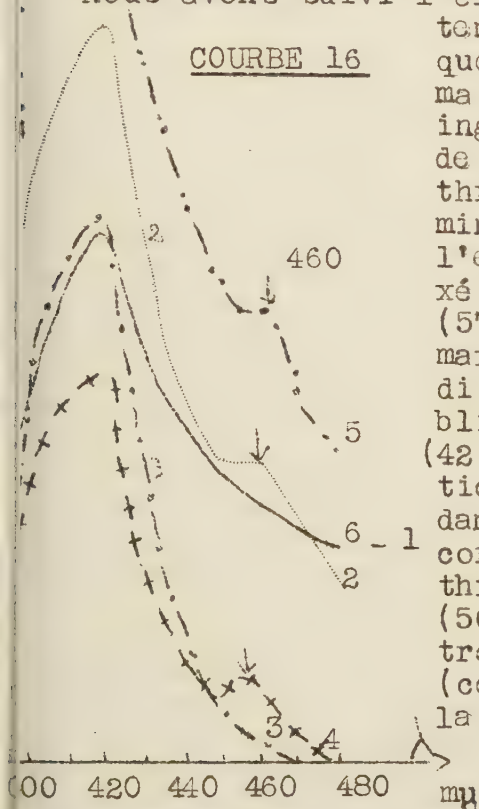


dont le spectre d'absorption ne montre plus qu'un faible ressaut à 335 mμ, les autres bandes du P.I.D. ayant disparu (Courbe 15).

D'après ces données spectrales, effectuées sur des moles, nous pensons dès lors que si l'on traite un animal avec de fortes doses de P.I.D., une partie du produit est capable de se combiner in vivo avec les albumines plasmatiques occasionnant de la sorte un abaissement transitoire de l'activité antithrombine. Cependant, la majorité du P.I.D. n'a pas agi dans de telles conditions puisque les études spectrales effectuées à intervalles réguliers sur le plasma d'humains traités au P.I.D. (faibles doses) nous a révélé la présence du produit intact sous sa forme énolique avec le maximum caractéristique à 460 mμ.

Nous avons suivi l'élimination du P.I.D. en fonction du temps par l'examen spectrophotométrique (spécialement à 460 mμ) des plasmas de sujets traités. 12 heures après ingestion d'une dose unique (200 mg) de P.I.D., alors que le taux de prothrombine est à 75 %, il y a déjà élimination du dérivé; vraisemblablement l'excès du produit qui n'a pu être fixé par le foie (°). A la 24ème heure, (57 % de prothrombine, courbe 3), le maximum caractéristique à 460 mμ ayant disparu, nous pensons qu'il s'est établi un équilibre. A la 36ème heure, (42 % de prothr., courbe 4), l'élimination du produit primitivement fixé dans le foie reprend et se poursuit encore à la 48ème heure (38,5 % de prothr., courbe 5). Vers la 60ème heure, (50 % de prothr., courbe 6), nous retrouvons la courbe du plasma normal (courbe 1), ce qui indique que toute la drogue a disparu.

COURBE 16



)- Nous avons pu démontrer expérimentalement la fixation de l'anticoagulant dans le foie chez le rat avec l'α-naphtylindane dione qui se prête mieux que le P.I.D. à une étude spectrophotométrique. (travail en cours)

III - ACTIVITE ANTIVITAMINIQUE K COMPARATIVE

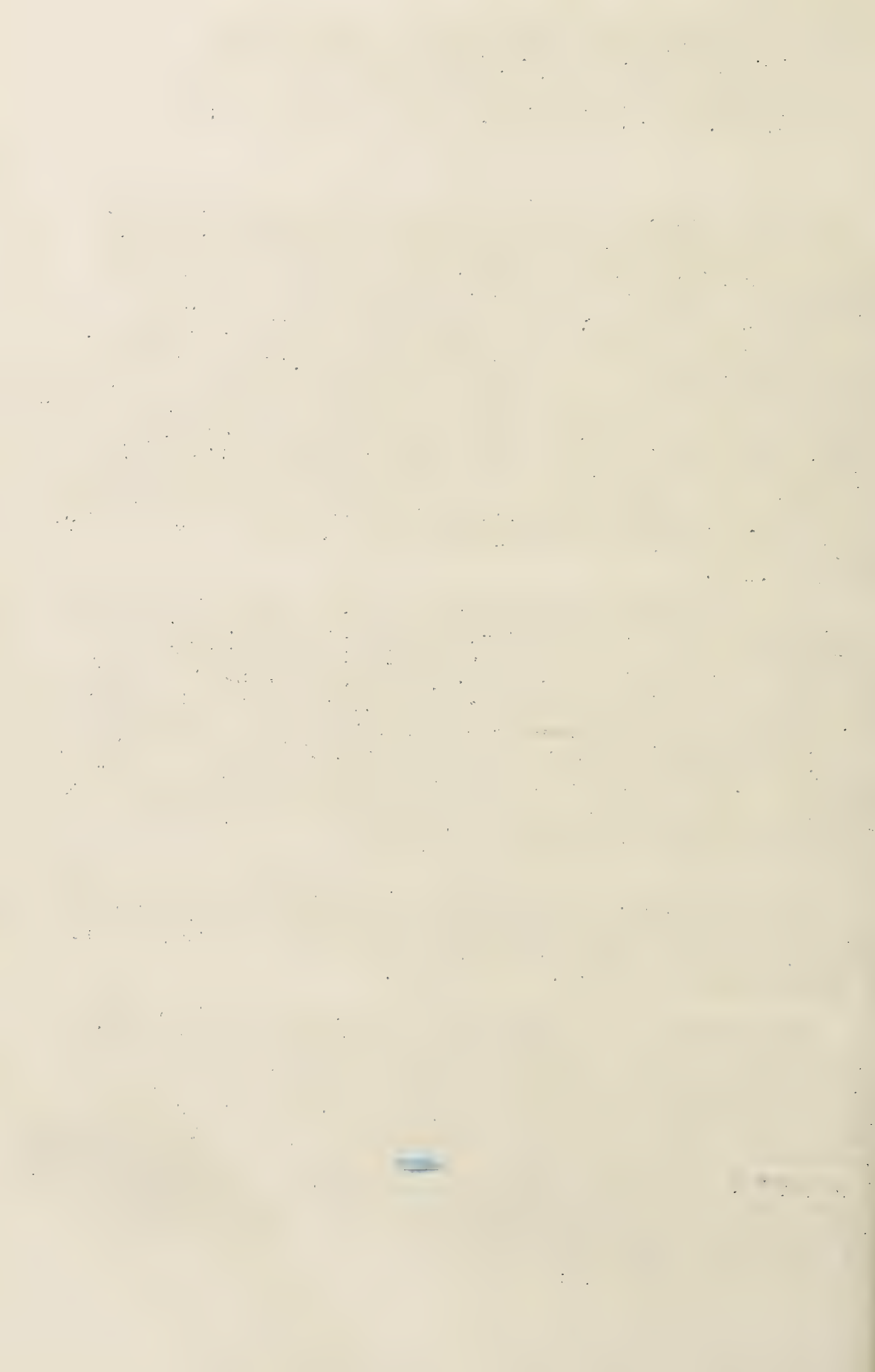
DE QUELQUES ARYL-INDANEDIONES CHEZ LE RAT

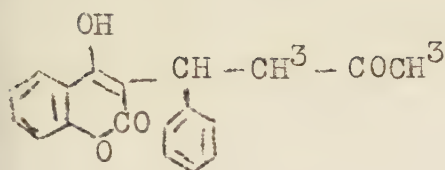
Dans la première partie de ce travail, nous avons signalé l'activité hypoprothrombinémiante de quelques aryl-indanédiones examinées chez le lapin. Il s'avère que la phényl-indanédione est relativement moins active chez le lapin que chez l'homme (résultats identiques pour 10 à 20 mg au Kg chez le lapin et 3 à 5 mg au Kg chez l'homme en dose unique). En plus, l'apparition de substituants sur le noyau phényle tend généralement à amoindrir l'activité chez le lapin lorsque les (tolyl, p-méthoxy-phényl, o-méthoxy-phényl, m-méthoxy-phényl, diméthoxy-3',4'-phényl, diméthoxy-2',4'-phényl, 4'-méthylène-dioxy-phényl, et méthyl-2'-méthoxy-4'-phényl) indanédiones sont moins actives à poids égal que le chef de file : le P.I.D.. Deux exceptions cependant, le p-chloro-phényl et le triméthoxy-phényl-indanédiones sont au moins aussi actifs que le P.I.D.

Mais une étude de cet ordre, tendant à donner des résultats comparatifs, est très difficile chez le lapin, car la susceptibilité individuelle est variable et les essais ne peuvent être effectués en série, au même moment. Le rat, par contre, présente l'avantage de l'homogénéité (animaux provenant d'un même élevage et souvent de même portée); son faible poids permet d'expérimenter avec des échantillons de produit en quantité très faible et nous avons pu voir, dans la première partie, que de nombreux dérivés obtenus par nous, n'ont pas été essayés chez le lapin en raison de la trop faible quantité de produit à notre disposition.

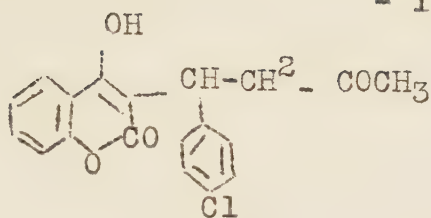
L'expérimentation peut donc s'effectuer en série chez le rat mais les animaux ne peuvent servir qu'une fois car il faut les sacrifier pour recueillir la quantité suffisante de sang nécessaire aux différents essais.

Par ailleurs, l'étude effectuée chez le rat, outre celle nous permet de connaître la sensibilité d'une autre espèce animale que le lapin ou l'homme, aux anticoagulants, nous donne un aperçu de l'activité raticide éventuelle de nos produits. En effet, depuis la guerre, la lutte contre les ravageurs des récoltes s'est intensifiée et le meilleur procédé connu à l'heure actuelle dans l'élimination des rongeurs consiste justement à utiliser des anticoagulants hypoprothrombinémiants à action relativement spécifique. On connaît le grand succès des raticides issus du dicoumarol que sont la coumatral et le tomorin :





warfarine



Tomorin

phényl / 3 acétyl)éthyl-3 (α p.chlorophényl acétyl) éthyl-3
hydroxy-4 coumarine hydroxy-4 coumarine

Il était dès lors intéressant de déterminer l'action anticoagulante chez le rat dans la série de corps particulièrement actifs chez l'homme et le lapin que nous avons réalisés, à savoir la série des aryl-indanediones.

L'expérimentation est conduite de la façon suivante : administrer les dérivés par la bouche, en suspension dans l'huile, à une série de rats en 2 doses successives à 24 heures d'intervalle. Les rats sont sacrifiés 24 heures après la dernière administration, le sang étant immédiatement recueilli sur oxalate d'ammonium (0,1 cm³ N/10 pour 1 cm³ de sang); après 5 minutes de centrifugation à 3.800 tours, les plasmas recueillis sont immédiatement examinés suivant la méthode de Quick.

Deuxième série d'expériences.-

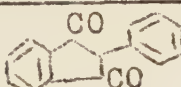
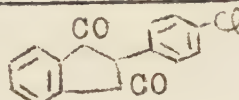
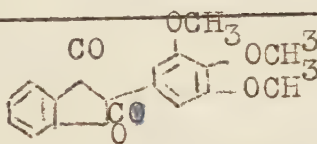
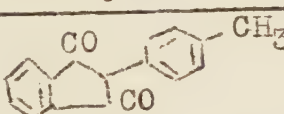
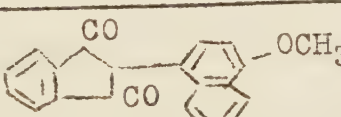
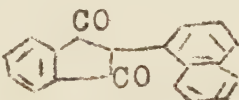
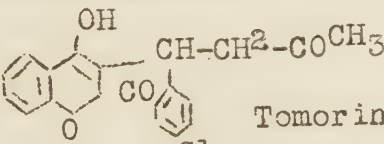
Une série de rats pesant 90 g. chacun reçoivent 5 mg¹ le premier jour puis 3 mg le deuxième jour, par exemple, des produits réunis dans le tableau suivant. Le temps de Quick normal des rats témoins est de 14,5 secondes. Nous avons tracé les courbes de corrélation entre temps de Quick et pourcentage de prothrombine en effectuant les mesures à différentes dilutions, avec du plasma de rat déprothrombiné au chlorure de barium. La courbe obtenue tracée sur papier logarithmique se transforme en une droite.

TABEAU XXVI

'Temps de Quick	' % de prothrombine
' 14,5 secondes	' 100
' 19,5 "	' 50
' 24,5 "	' 30
' 29 "	' 20
' 39,5 "	' 10

TABLEAU XXVII

Rats blancs pesant 90 g.

ids de subs- nce adminis- é en 2 fois	Produits	T.Q. ? en soc'proth	%
0	témoin	14,5	100
(5mg + 3mg)	 ou P.I.D.	20	48
(10mg + 8mg)	"	23	35
(5mg + 3mg)		19	54
(10mg + 8mg)	"	19	54
5mg + 3mg		19	54
10mg + 8mg		17	70
10mg + 8mg		24	32
(5mg + 3mg)		84	1,51
(5mg + 5mg)	"	150	-1/2
5mg + 5mg	 Tomorin	108	- 1

De ces résultats expérimentaux, il ressort :

que le rat est beaucoup moins sensible aux anticoagulants hypoprothrombinémiants de cette série que l'homme ou même le lapin puisque chez l'homme, en 2 doses de 200 mg + 100 mg de P.I.D. (pour 60 Kgs, soit 5 mg/Kg), le taux de prothrombine est abaissé à 30 %, alors que chez le rat, pour 30 % de prothrombine, il faut avec le P.I.D. 10 mg + 8 mg (pour 90 g), soit 200 mg au Kg.

que les substituants sur le noyau phénylo en 2 réduisent quelque peu l'activité.

que parmi tous les dérivés essayés l' α -naphtyl-indanedi-one est extrêmement actif, allongeant les temps de Quick jusqu'à faire apparaître des signes hémorragiques (épistaxis). Le groupement α naphtyle en 2, au lieu du groupement phényle, apparaît beaucoup plus efficace pour un abaissement intense des taux de prothrombine; le dérivé obtenu étant plus voisin encore de la structure du dicoumarol que n'est le P.I.D.

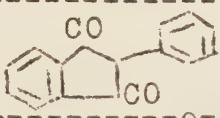
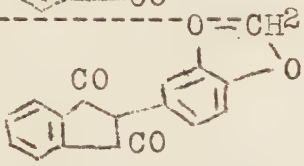
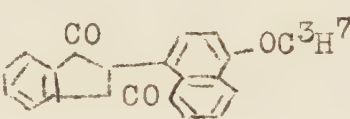
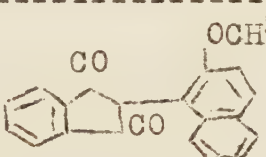
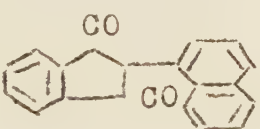
que l'activité de l' α -naphtyl-indanedi-one est tout à fait composable à celle obtenue à dose égale avec le to-norin et que, par conséquent, son utilisation comme rat-icide est à envisager.

que la présence d'un substituant sur le noyau α naphtyle fait régresser considérablement l'activité anticoagu-lante.

Deuxième série d'expériences.-

Les résultats ont été consignés dans le tableau, ci suivante.

TABLEAU XXVIII

Rats blancs pesant 120 g.			
dos de subst' min. en 2 fois	Produit	T.Q. en sec.	% proth.
0	Témoin	14,5	100
0 mg + 10 mg		18	60
0 mg + 10 mg		19	54
10 mg + 10mg		16	80
10 mg + 10 mg		17	70
10 mg + 10 mg		92	1

De ces résultats, on conclue :

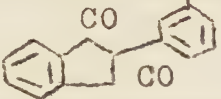
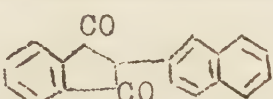
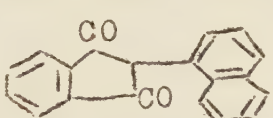
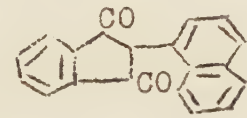
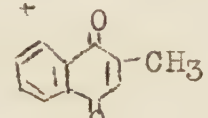
que la présence des substituants méthoxy- ou propoxy- sur le noyau α -naphtyle en ortho ou para diminue considérablement le pouvoir hypoprothrombinémiant.

que l'apparition d'un hétérocycle sur le noyau phényl (donnant une structure comparable comme encombrement à celle du dérivé α -naphtyle) et c'est le cas du dioxyméthylène-phényl-indanedione, ne donne pas lieu à une activité élevée.

isième série d'expériences.

Les résultats ont été consignés dans le tableau
avant :

TABLEAU XXIX

Rats blancs pesant 150 g			
Poids de subst. admin. en 2 fois	Produit	T.Q. en sec.	% proth.
0	Témoin 	14,5	100
10mg + 10mg		18	60
8mg + 7mg		17,5	66
8mg + 7mg		30	18
(8mg + 7mg (+ (40mg + 20mg (	 + 	25	28

On peut conclure, en fonction de ces données que :

) le dérivé ^B2-naphtyl-indanedione qui pourtant présente le même encombrement que l' α -naphtyl-indanedione est cependant beaucoup moins hypoprothrombinémiant que ce dernier.

) en présence de doses massives de 2-méthyl-naphto-quinone, administrées par la bouche en même temps que l' α -naphtyl-indanedione, on assiste à un léger antagonisme. Il serait évidemment intéressant de reproduire ces essais avec de la vitamine K₁ injectable que l'on sait être le seul antagoniste réel des hypoprothrombinémiants.

) plus les rats mis en expérience sont âgés et partant, de poids plus élevé, moins les produits essayés sont actifs.

Il y aurait une sensibilité plus grande aux anticoa-

ulants de ce type avec des rats plus jeunes; en effet, ce phénomène apparaît plus explicite sur le tableau suivant :

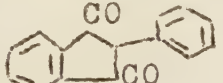
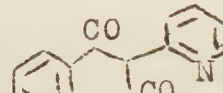
TABLEAU XXX

Poids des rats		α-naphtylindanedione		P.I.D.	
	Poids de subst. admin. pour 100 g Pds vif	Taux de proth.		Poids de subst. admin. pour 100 g Pds vif	Taux de proth.
150g	10 mg	18 %		16,6 mg	60 %
120g	16,6 mg	1 %		16,6 mg	60 %
90g	9 mg	1,5 %		9 mg	54 %
90g	11 mg	0,5 %		16,2 mg	35 %

D'après ces données, si l' α -naphtyl-indanédione est capable d'abaisser la prothrombine à des taux extrêmement bas, le P.I.D. qui est beaucoup moins actif ne semble pas capable d'abaisser la prothrombine à des taux plus faibles que les taux thérapeutiques de 30 %.

Nous avons voulu savoir s'il en était de même à doses plus fortes et avec des rats plus jeunes.

TABLEAU XXXI

Rats blancs pesant 60 g					
Pds de subst. admin. en 2 fois	Poids pour 100g, Pds vif	Produit	T.Q. en sec.	% proth.	
0	0	Témoin	14,5	100	
10mg + 10mg	50 mg		133	1	
10mg + 10mg	50 mg		17	70	

Le P.I.D. est donc, à très fortes doses, capable d'abaisser considérablement le taux de prothrombine chez le rat. Notons qu'aux mêmes doses le dérivé pyridiné correspondant est très peu actif.

Etude de mélanges de plasmas prothrombopéniques.

Nous avons vu précédemment que l' α -naphtyl-indanédione et le tomorin sont beaucoup plus actifs chez le rat que le P.I.D. et un certain nombre d'autres anticoagulants. Il était intéressant de savoir si le mode d'action de ces deux corps était identique, ou bien s'ils abaissaient, en dehors de la prothrombine, un autre facteur qui n'aurait pas été touché par le P.I.D.; ceci expliquerait les abaissements plus sensibles des temps de Quick avec ces deux dérivés.

(255) Une étude de cet ordre a été entreprise par Dam et Coll. relative aux mélanges de plasmas provenant de poulets dicoumarolés et de poulets carencés en vitamine K; le dicoumarol, dans ces expériences, abaisse un nouveau facteur (en dehors de la prothrombine) non touché par la carence en vitamine K.

Nous avons donc effectué les séries de mélanges suivants :

- Plasma α -naphtyl-indanédione + plasma témoin
- Plasma α -naphtyl-indanédione + plasma P.I.D.
- Plasma Tomorin + plasma P.I.D.

TABEAU XXXII

1) Plasma α -naphtyl-indanédione + plasma témoin						
	plasma témoin	plasma α -naphtyl	plasma témoin 50%		pl. α -naphtyl 50%	
dilution	100%	50%	100%	50%		
T.Q.	14,5"	19,5"	84"	> 3'		18,5"
% proth.	100	50	1,5	0,5		58

La différence entre le taux de prothrombine observé (58% et le taux de prothrombine calculé (50% + 0,5% = 50,5%) soit 7,5 %, provient d'un déficit dans le plasma α -naphtyl- que nous imputons au facteur VII (voir étude biologique sur le P.I.D.).

TABEAU XXXIII

2) Plasma α -naphtyl-indanédione + plasma P.I.D.						
	plasma PID.	plasma α -naphtyl	plasma P.I.D. 50%			
					pl. α -naphtyl 50%	
dilution	100%	50%	100%	50%		
T.Q.	23"	30"	2'30"	> 5'		22"
% proth.	35	18	0	0		38

La différence entre le taux de prothrombine observé (3%) et le taux de prothrombine calculé (18%), soit 20%, dé-
 te un déficit important, comme si le plasma au P.I.D. avait
 porté au plasma α -naphtyl- un facteur différent de la proth-
 bine dont le plasma α -naphtyl- était déficient (probable-
 nt, facteur VII).

TABLERAU XXXIV

3) plasma Tomorin + plasma P.I.D.						
	'plasma P.I.D.'		'plasma Tomorin'		'plasma P.I.D. 50%	
	'100 % '50 %		'100 % '50 %		'plasma Tomorin 50%	
Alution	'100 % '50 %		'100 % '50 %		'plasma Tomorin 50%	
P.Q.	'18" '24"		'108" '5'		'21"	
proth.	'60 '31		'0,5 '0		'42	

La différence entre le taux de prothrombine observé (2%) et le taux de prothrombine calculé (31%), soit 11 %,
 lève d'une déficience analogue dans le plasma Tomorin
 celle que l'on observe dans le plasma α -naphtyl-

Donc, quand des produits tels que l' α -naphtyl- ou le
 morin diminuent intensément le taux de prothrombine, on as-
 ste à une diminution concomitante d'un autre facteur, que
 P.I.D. n'abaisse qu'en proportion moindre : à savoir le
 ctueur VII.

Le facteur V ne semble touché que de façon très fai-
 e car l'addition au plasma α -naphtyl, comme Tomorin, de
 asma normal traité au sulfate de baryum n'a donné lieu qu'à
 s raccourcissements de temps de Quick insignifiants.

Evidemment, des recherches tendant à préciser ces
 nnées sont nécessaires mais la faible quantité de plasma
 e l'on obtient en sacrifiant les rats ne nous a pas encore
 rmis de les poursuivre.

Quoi qu'il en soit, les recherches chez le rat effec-
 ées avec une série d'aryl-indanediones ont permis :

-) de préciser les activités comparatives de chacun de ces anticoagulants;
-) de découvrir que le dérivé le plus actif de la série : l' α -naphtyl-indanedione. était celui qui, par son encombrement spatial, se rapprochait le plus de la structure du dicoumarol;
-) de constater que le mode d'action de ces anticoagulants est identique, à savoir : -abaissement de la prothrombine et du facteur VII -antagonisme par les vitamines K.

IV - ETUDE de l'ACTION ANTICOAGULANTE IN VITRO du P.I.D.

Nous venons de voir que le P.I.D. intervenait in vivo façon tout à fait comparable au dicoumarol. Il était également important de déterminer quel pouvait être son mode d'action in vitro.

ACTION du P.I.D. IN VITRO, sur le TEMPS de COAGULATION.

La meilleure méthode capable de mettre en évidence l'action in vitro d'un dérivé consiste à l'additionner à du plasma citraté à des doses croissantes, et à mesurer le temps de coagulation au moment de la recalcification (°). L'opération se fait à température ambiante (23°). On utilise une solution de sel de sodium de P.I.D. (préparée en dissolvant le produit dans la quantité théorique de bicarbonate de soude); nous avons vérifié que le PH plasmatique n'est pas modifié après addition du produit en solution. Les résultats sont les suivants :

TABLEAU XXXV

'Plasma addi-'	Conc.	' Temps de '
'tionné de : '	dans 1 cm ³	' coagulation '
'Témoin'		' 10 minutes '
'Héparine'	1 %	' > 2 h. '
'P.I.D.'	2 %	' 10 minutes '
'P.I.D.'	20 %	' 10 minutes '
'P.I.D.'	200 %	' 9 min. 5 sec. '
'P.I.D.'	1000 %	' 13 min. 45 sec. '

Par conséquent l'action du P.I.D. in vitro est nulle à de faibles concentrations et ne ressemble en rien à celle de l'héparine.

A une série de tubes à hémolyse contenant 0,1 cm³ de plasma citraté, on ajoute soit 0,1 cm³ de sérum physiologique (témoin) soit 0,1 cm³ de la solution du dérivé à essayer, puis on mettant en marche un chronomètre on ajoute très rapidement 0,1 cm³ d'une solution de chlorure de calcium 0,025 M et on note le temps de coagulation (apparition d'un caillot stable de fibrine).

Cependant, il nous a paru intéressant de déterminer quelles modifications le P.I.D. pouvait apporter au plasma après un temps de contact plus ou moins prolongé, tant donné que le produit passe dans le sang, comme l'a montré l'étude spectrale.

- ACTION du P.I.D. sur la CONSERVATION des PLASMAS.-

1°) - ACTION sur le FACTEUR LABILE. -

- 1) - Conservation d'un plasma à différentes températures
- 2) - Expérimentation avec 200 $\times$ de P.I.D. pour 0,1 cm³ de plasma

a-conservation effectuée à -20°

Les tubes renfermant l'un, un volume de plasma citraté humain frais et un volume de sérum physiologique, l'autre un volume de plasma et un volume de solution de P.I.D., sont conservés en glacière à -20° . De temps en temps on dégèle rapidement et on prélève $0,2 \text{ cm}^3$ de solution plasmatique dans chacun des tubes, on ajoute $0,1 \text{ cm}^3$ de solution calcique et on détermine le temps de recalcification.

On a ainsi :

TABLEAU XXXVII

Température - 20°					
Temps de contact					
	0 h.	24 h.	48 h.	96 h.	120h'144h.
Témoin	5min.30"	3min.30"	2' 15"	6'	5' 5'45"
P.I.D. (200 ^x)	5' 50"			7' 5'45"	7'

b- conservation effectuées à température

ordinaire - Les temps de récalcification sont les suivants :

Cependant, il nous a paru intéressant de déterminer quelles modifications le P.I.D. pouvait apporter au plasma après un temps de contact plus ou moins prolongé, étant donné que le produit passe dans le sang, comme l'a montré l'étude spectrale.

- ACTION du P.I.D. sur la CONSERVATION des PLASMAS.-

1°) - ACTION sur le FACTEUR LABILE.-

a) - Conservation d'un plasma à différentes températures

° - Expérimentation avec 200^x de P.I.D. pour 0,1 cm³ de plasma

a-conservation effectuée à - 20°

3 tubes renfermant l'un, un volume de plasma citraté humain frais et un volume de sérum physiologique, l'autre un volume de plasma et un volume de solution de P.I.D., sont conservés en glacière à -20°. De temps en temps on dégèle rapidement et on prélève 0,2 cm³ de solution plasmatique dans chacun des tubes, on ajoute 0,1cm³ de solution calcique et on détermine le temps de recalcification.

On a ainsi :

TABEAU XXXVII

Température - 20°						
Temps de contact						
	0 h.	24 h.	48 h.	96 h.	120h	144h.
Témoin	5min.30"	3min.30"	2' 15"	6'	5'	5'45"
P.I.D.(200 ^x)	5' 50"			7'	5'45"	7'

b- conservation effectuée à température

ordinaire - Les temps de recalcification sont les suivants :

TABLERAU XXXVIII

Température + 22°			
Temps de contact			
	0 h.	24 h.	72 h.
Témoin	8'	8' 30"	7' 30"
P.I.D. (200)	8' 30"	9' 30"	7'

c- conservation effectuée à + 37°

Les temps de recalcification sont les suivants :

TABLERAU XXXIX

Température + 37°					
Temps de contact					
	0 h.	4 h.	7 h.	10 h.	24 h.
Témoin	6'	7' 30"	10' 15"	15'	18'
P.I.D. (200)	5' 45"	6' 30"	7' 30"	8'	10'

Notons en premier lieu que les plasmas témoins présentent des variations du temps de coagulation en fonction de la température de conservation. A -20°, nous constatons un raccourcissement très marqué entre la 24ème et la 48ème heure, ce qui n'a pas lieu à température ordinaire. A 37° au contraire, se produit un allongement des temps de coagulation. D'après les travaux de Quick, (218), (223), Taylor (263) et Weinstein (266), Schilling (238), Alexander (7), etc... ces résultats peuvent s'expliquer de la façon suivante :

Au cours de la conservation à 37°, il y a une déperdition rapide du facteur labile ce qui se traduit par un allongement du temps de coagulation; à -20°, les raccourcissements observés sont imputables :

à la libération au sein du plasma d'une thromboplastine active par suite de l'éclatement des thrombocytes par le froid,

à l'apparition au cours de la conservation d'un facteur ayant une activité comparable à celle du Spca et qui n'apparaît qu'à cette température.

A -20° et à température ambiante, nous n'avons remarqué pratiquement aucune action du P.I.D. sur la conservation d'un plasma. Par contre, à 37°, on dénote un effet protecteur.

Pour déterminer quels facteurs étaient protégés, nous avons étudié les variations du temps de Quick au cours de la conservation à 37°. Dans ces conditions les fluctuations de la thromboplastine plasmatique n'interviennent plus puisque la mesure du temps de Quick s'effectue par définition en présence d'un excès de thromboplastine.

TABLEAU XL

Temps de contact	0 h.	4h.	7 h.	10 h.	24 h.	36 h.
Témoin	19"	24"	36"	54"	185"	∞
P.I.D. (200 ^x)	19"	24"	32"	50"	88"	∞

Temps de Quick de plasmas conservés à 37° en présence de PID

Par conséquent 200^x de P.I.D., à 37° semblent protéger la déperdition rapide d'un facteur qui pourrait être de prothrombine ou le facteur labile.

) Expérimentation avec 500^x de P.I.D. pour 0,1 cm³ de plasma.-

Dans ces conditions les temps de recalcification sont les suivants :

TABLEAU XLI

Température	Temps de contact					
	0 h.		16 h.		24 h.	
	Témoin	P.I.D.	Témoin	P.I.D.	Témoin	P.I.D.
20°	5'	5'15"			3'30"	8'
22°	5'	5'15"	5'20"	10'	5'45"	15'
37°	5'	5'15"	16'30"	∞	41'45"	∞

Avec 500⁸ pour 0,1 cm³ de plasma, le P.I.D. non seulement ne protège plus les facultés de coagulation du plasma mais encore les fait-il disparaître rapidement; d'autant plus vite que la température est plus élevée et que le temps de contact est plus prolongé. Les temps de Quick des plasmas conservés à + 37° sont considérablement raccourcis à l'addition d'une faible proportion de facteur labile (plasma de lapin frais déprothrombiné).

TABLEAU XLII

	Temps de contact		
	0 h.	1 h. 30	4 h.
Témoin	19"	19"	24"
P.I.D. (500 ⁸)	22"	27"	70"
Témoin + fact. labile	-	-	18"5
P.I.D. (500 ⁸) + fact. labile	-	-	20"

Par conséquent, au cours de la conservation, le P.I.D. aux doses convenables agit en activant la destruction du facteur labile, la prothrombine n'étant pas touchée.

Nous avons repris une expérience analogue avec du plasma déjà vieilli (donc appauvri en facteur labile) et dont le temps de Quick était allongé. L'addition de la même proportion 0,1 cm³ de plasma (humain ou lapin) frais déprothrombiné donne les résultats suivants :

TABLEAU XLIII

	Temps de Quick					
	après 0 h.			après 6 h.		
	+ 0	+ fact. V lapin	+ fact. V humain	+ 0	+ fact. V lapin	+ fact. V humain
lapin	32"	24"	28"	77"	25"	36"
P.I.D.				185"	26"	55"
	Temps de recalcification					
	+ 0	+ fact. V lapin	+ fact. V humain	+ 0	+ fact. V lapin	+ fact. V humain
lapin	10'30"	7'5"	9'30"	15'		12'
P.I.D.				85'		16'

Temps de Quick et temps de recalcification d'un plasma vieilli avec ou sans P.I.D. (500⁸ dans 0,1 cm³) additionné ou non de facteur labile.

Cette différence d'action du plasma de lapin et du plasma humain, (le plasma de lapin étant beaucoup plus riche en facteur V) est une confirmation supplémentaire du fait que c'est bien le facteur labile qui disparaît au cours de la conservation en présence du P.I.D. Or, in vivo, nous n'avons eu qu'une action légère, du produit, sur ce même facteur. Evidemment, au cours de son action in vivo, le P.I.D. est en concentration moindre dans le sang circulant, qu'il ne l'est in vitro dans les expériences précédentes. Nous avons pensé cependant que l'action du P.I.D. in vitro était due au fait que le plasma est en contact avec l'air et qu'ainsi il était facilement oxydable. C'est pourquoi, nous avons étudié comparativement la conservation de deux plasmas A et B, de temps Quick semblables (19 et 20 secondes), mais dont l'un, le plasma B est très gras (donneur en pleine digestion). La teneur en lipides du plasma B ne perturbe pas la mesure des temps de Quick mais protège le plasma du contact avec l'air. On peut remarquer (comme nous l'avons vérifié après délipidation centrifuge) qu'en effet, l'allongement des temps de Quick du plasma gras (B) avec ou sans P.I.D. est beaucoup moins rapide que celui du plasma A. Il semble donc que le P.I.D. agisse in vitro en accélérant l'oxydation du facteur labile. Si cette hypothèse est vraie, il doit être possible de contrecarrer l'action du P.I.D. par l'addition concomitante d'ascorbate de Na, lequel rend un milieu anaérobie, même en présence d'air.

C'est ce que nous avons observé :

TABIEAU XLIV
Temps de Quick

	'après 0h.30'	'après 8h. à 22°	
	'à 22°	'	'
	'	'	'
	'	'	' + fact. V
	'	'	' lapin
	'	'	'
' Témoin	' 19"	' 19"	' 14"
'	'	'	'
' + P.I.D. (1.000 ^s)	' 35"	' ∞	' 1' 17"
'	'	'	'
' + ascorbate de Na	'	'	'
' (1.000 ^s)	' 18"	' 24"	'
'	'	'	'
' + P.I.D. (1.000 ^s)	'	'	'
' + ascorbate	' 27"	' 3'30"	' 33"
' (1 000 ^s)	'	'	'
'	'	'	'

) APPARITION d'une NOUVELLE ANTITHROMBINE au COURS de la CONSERVATION du PLASMA à 37°.-

a) Nature de cette antithrombine :

D'après le tableau X L , on peut consta -

er qu'après 36 heures à 37°, le plasma, en présence ou non de P.I.D., ne coagule plus après addition de calcium et de thromboplastine. Même lorsque l'on ajoute une solution de facteur labile, on n'obtient pas la coagulation d'un tel plasma. Nous avons pensé que la prothrombine avait commencé à se détruire. Aussi avons-nous additionné nos plasmas d'un volume de plasma humain frais (100 % de prothrombine et 100 % de facteur labile). Là encore, nous n'avons pas eu de coagulation. Le plasma conservé a même été capable dans ce dernier cas d'empêcher la coagulation du plasma frais, lequel aurait coagulé normalement en 22 secondes, étant donné sa dilution. Ce phénomène ne peut se comprendre que par l'apparition dans le plasma conservé à 37° pendant 36 h. d'une nouvelle antithrombine.

TABEAU XLV

plasma normal %	plasma conservé %	sérum.phys. %	Temps de Quick
100	0	0	18"
0	100	0	∞
50	0	50	22"
50	50	0	∞
66,6	0	33,3	20"
66,6	33,3	0	42"
75	0	25	19,5
75	25	0	25"
80	0	20	19"
80	20	0	22"
83,4	0	16,6	18,5
83,4	16,6	0	20"

Temps de Quick d'un plasma conservé à 37° additionné à un plasma frais en quantités variables.

Il semble donc d'après ces résultats, qu'il apparaisse dans le plasma une antithrombine à action immédiate, de comportement tout différent de celui de l'antithrombine normale progressive, dont on ne peut déceler l'action qu'en l'absence de fibrinogène.

Les seules antithrombines immédiates connues sont du type héparine et là nous soulevons une très vieille controverse toujours à l'ordre du jour: l'héparine qui se trouve normalement dans tous les tissus se rencontre-t-elle normalement dans le sang circulant et est-elle responsable de la fluidité du sang ?

Jaques (108) n'a pas pu isoler l'héparine en quantité

suffisante à partir de plusieurs litres de sang; mais on sait que pour extraire l'héparine des tissus animaux, une autolyse prolongée est nécessaire.

D'ailleurs Tanturi et Wetzol (262) ont remarqué une augmentation du pouvoir antithrombine de plasma vieilli, lyophilisé ou aéré. D'après ces auteurs, il semblerait que cette antithrombine apparaissant au cours de la conservation (où une certaine autolyse est toujours possible), soit de l'héparine ou un héparinoïde puisqu'on peut neutraliser son action par le sulfate de protamine.

Nous avons voulu savoir si, dans nos essais, l'antithrombine apparue était ou non de l'héparine.

On sait que pour étudier l'action de l'héparine, les temps de Quick ne sont pas valables car la thromboplastine en excès risque de modifier l'action du produit. Il faut donc mesurer les temps de Howel ou temps de coagulation après recalcification.

TABLEAU XLVI

' plasma normal	' plasma conservé	' Temps recalci-	'
		fication	
' 1 partie	' 0 partie	' 8'20"	'
' 2 parties	' 0 "	' 8 minutes	'
' 0 partie	' 1 "	' ∞	'
' 1 partie	' 1 "	' ∞	'
' 1 "	' 1/2 partie	' 13 minutes	'
' 1 "	' 1/4 "	' 8'20"	'

Temps de recalcification d'un plasma conservé à 37°, additionné à un plasma frais en quantités variables.

Si l'antithrombine du plasma vieilli est de l'héparine, il doit être possible de la neutraliser avec des quantités relativement faibles de thromboplastine, comme nous l'avons montré pour l'héparine avec Cotte. (27)

TABEAU XLVII

'plasma 'normal	'plasma 'conservé	'Héparine	'thrombopl. 'diluée	'Temps de 'recale.
'1 partie	'	'	'0	'14' 30"
'1 "	'	'	'0,1cm ³	'2' 30"
'1 "	'	'1 γ	'0	'120'
'1 "	'	'1 γ	'0,1cm ³	'5' 15"
'1 "	'	'2 γ	'0	' ∞
'1 "	'	'2 γ	'0,1cm ³	'11' 30"
'1 "	'1/2 partie	'	'0	'23'
'1 "	'1/2 "	'	'0,1cm ³	'4'
'1 "	'1 partie	'	'0	' ∞
'1 "	'1 "	'	'0,1cm ³	' ∞

Action de la thromboplastine sur le temps de recalcification
d'un plasma additionné de plasma conservé à 37° ou d'héparine

Dans le cas du plasma conservé, l'addition de thromboplastine n'est pas capable de beaucoup raccourcir le temps de Howell.

Ce résultat n'étant pas concluant, nous avons essayé la neutralisation éventuelle de notre plasma par le sulfate de protamine qui est un des critères les plus sûrs de la présence de l'héparine.

TABLEAU XLVIII

plasma normal %	plasma conservé %	Héparine	Protamine	Temps de recalc.
50				7'
50		0,5 %		16'
50		0,5 %	1 %	8' 40"
50		.5 %	10 %	10' 20"
50	50			∞
50	50		1 %	∞
50	50		10 %	∞
50	50		100 %	∞

essai de neutralisation par la protamine de l'antithrombine
du plasma conservé

Le sulfate de protamine n'a aucune action sur l'antithrombine du plasma conservé à 37°. Ce n'est donc pas de l'héparine et l'absence de réaction métachromatique au bleu de méthylène le confirme.

Nous avons voulu vérifier enfin que le pouvoir anti-coagulant du plasma conservé n'était pas dû à une destruction du fibrinogène par une fibrinolysine. par exemple; Nous avons ajouté au plasma conservé une certaine quantité de fibrinogène "Armour" avant d'introduire la thrombine dans le mélange. Dans ce cas encore la coagulation n'a pas eu lieu.

TABLEAU XLIX

plasma normal	plasma conservé	fibrinogène	thrombine	Temps de coagulation
0	0	0,2 cm ³	0,5 cm ³	25"
0,1 cm ³	0	0	0,5 cm ³	35"
0,1 cm ³	0	0,1 cm ³	0,5 cm ³	25"
0	0,1 cm ³	0	0,5 cm ³	∞
0	0,1 cm ³	0,1 cm ³	0,5 cm ³	∞

Temps de coagulation d'un plasma normal et d'un plasma conservé additionnés de thrombine et de fibrinogène.-

Nous pouvons donc dire que le plasma conservé à 37° confère une antithrombine immédiate qui n'est ni l'héparine, ni l'antithrombine progressive normale.

b) Influence du P.I.D. sur l'apparition de l'antithrombine au cours de la conservation du plasma à 37°.-

Nous avons comparé un plasma conservé à 37° et le même plasma conservé à 37° en présence de P.I.D. Les résultats sont réunis dans le tableau suivant :

TABLEAU L

'Plasma 'normal %	'Plasma 'conservé %	'Plasma 'conserv. en 'présence PID '%	'Temps de 'recalcification
50	0	0	8' 20"
50	50	0	∞
50	0	50	14'
50	25	0	13'
50	0	25	9' 30"

Temps de recalcification d'un plasma frais additionné de plasma conservé à 37° en présence ou non de P.I.D.-

Il semble donc que le P.I.D. a grandement empêché l'apparition de l'antithrombine immédiate au sein du plasma au cours de la conservation à 37°. Or, dans l'étude de l'antithrombine normale des sérums, nous avons vu que l'addition de P.I.D. in vitro on diminuait l'action; le P.I.D. semblant également empêcher la formation de l'antithrombine immédiate, nous formulons l'hypothèse que l'antithrombine immédiate apparue au cours de la conservation à 37° provient d'une transformation par vieillissement de l'antithrombine progressive.

c) - ACTION in vitro du P.I.D. sur la THROMBINE.-

On mesure le temps de thrombine (°) d'une solution de fibrinogène (100 mg fibrinogène "Armour" dans 10 cm³ de

d) - Pour effectuer la mesure du temps de thrombine, on ajoute très rapidement tout en mettant en marche un chronomètre 0,1 cm³ de la sol. de fibrinogène à 0,1 cm³ de thrombine + 0,1 cm³ de sérum physiologique.

drum physiologique). On effectue des mesures également en présence de concentrations croissantes de P.I.D. On obtient les résultats suivants :

TABLEAU LI

Thrombine	P.I.D.	fibrinogène	Temps de thrombine
0,1cm ³	0	0,1cm ³	7"
0,1cm ³	100%	0,1cm ³	9"
0,1cm ³	500%	0,1cm ³	11"
0,1cm ³	1000%	0,1cm ³	19"

Ce n'est qu'à très fortes concentrations que le P.I.D. est capable de retarder l'action de la thrombine.

Action du P.I.D. sur la conservation de la thrombine à 37°.-

TABLEAU LII

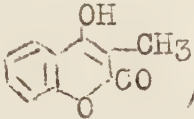
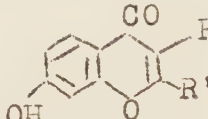
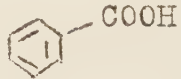
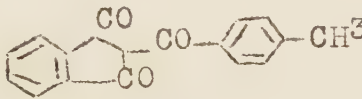
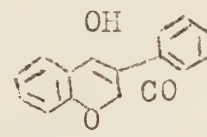
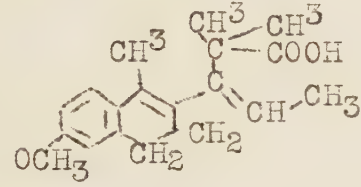
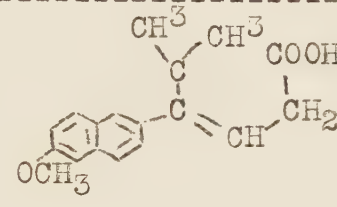
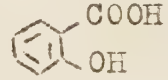
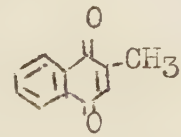
	après 20'	après 15 h.	après 22 h.
Témoin	7"	12"	26"
+ P.I.D.	9"	16"	90"

Temps de thrombine (d'une solution de fibrinogène)
après conservation de la thrombine à 37° en présence
ou non de P.I.D.

Au cours de la conservation à 37°, la thrombine perd progressivement son activité et la présence du P.I.D. accentue cette déperdition. Il semble donc que là encore c'est par oxydation que la thrombine se détériore et le P.I.D. augmente son oxydabilité. Il est intéressant de rapprocher ce résultat d'expériences récentes de Pálos (199 Bis) qui montre que la thrombine se détruit sous l'effet de l'oxygène et que l'héparine est capable d'empêcher cette oxydation.

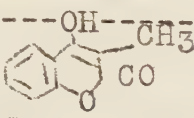
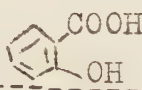
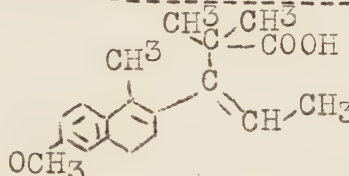
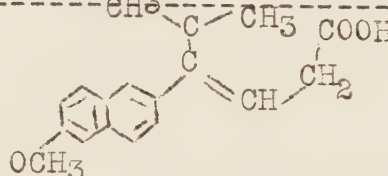
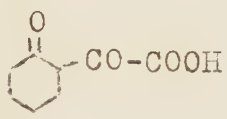
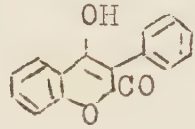
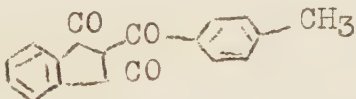
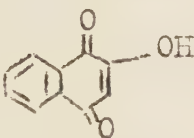
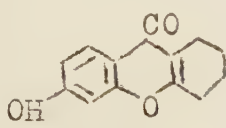
- ETUDE COMPARATIVE DE QUELQUES SUBSTANCES DEJA ETUDIEES PHY-
- BIOLOGIQUEMENT, SUR LA COAGULATION DES PLASMAS, IN VITRO.-

TABLEAU LIII

N.°	Substances
19"	'Témoin, sérum physiologique,  ,  , 
20"	 
21"	 ,  , 
22"	'acide ascorbique
25"	'diphticol
32"	'dicoumarol
34"	
36"	'P.I.D.

Temps de Quick d'un plasma normal après 3 h. à 37°,
on contact avec différentes substances à la
concentration de 400^{mg} pour 0,1 de plasma.

TABLEAU LIV

T.Q.	Substances
19"	témoin, sérum physiologique
22"	acide ascorbique
23"	
24"	
31"	 
35"	 
39"	
41"	
45"	
1'50"	P.I.D. + acide ascorbique
	P.I.D., dicoumarol, vitamine K ₃ , toutes les diphticol Aryl, indane diones

temps de Quick d'un plasma normal après 3 h. à 37° en contact
avec différentes substances à la concentration de 1 mg. pour
ml de plasma.

Il apparaît nettement, que parmi toutes les substances étudiées, celles qui ont l'activité la plus prononcée, comme anticoagulants in vitro, après contact, sont également celles, qui se sont montrées actives comme prothrombopéniques physiologiques : dicoumarol, diphticol, P.I.D., et aryl¹-indanodiones. Notons cependant que la 2-méthyl-naphtoquinone qui est pourtant une vitamine K est également très active à cette concentration. Ce dernier fait est à rapprocher des résultats obtenus par Meunier qui a montré que la méthyl-2 naphtoquinone-1,4, à haute dose, pouvait agir comme anticoagulant. L'hypothèse que nous formulons dès lors est que toutes ces substances ainsi capables d'agir in vitro, pourraient in vivo se fixer dans le foie et interférer avec la synthèse des facteurs de la coagulation par un mécanisme d'oxydation.

-----0-----

4^e P A R T I E

- S Y N T H E S E S O R G A N I Q U E S -

Les diverses substances que nous avons étudiées tant au point de vue prothrombopénique qu'oestrogène peuvent se classer en plusieurs séries chimiques faisant appel à des méthodes synthétiques variées.

4 Nous allons les décrire en suivant la classification ci-après :

I - Série hétérocyclique : benzopyrones

A) Coumarinos

1) alkyl-4 coumarinos

2) hydroxy-4 coumarinos

(Voir les Tableaux

I à X dans les 1ère

et 2ème parties)

B) Chromones

II - Série naphtalénique

A) Tétralones

B) Naphtoquinones

C) Naphtalènes substitués et corps à cycles potentiels

III - Série indanique

A) Aryl-indanédiones

B) Indanones

C) Indénones

D) Corps à cycles potentiels

I. - SERIE HETEROCYCLIQUE

Méthodes de synthèse des benzopyrones comprenant les coumarines et les chromones.-

Rappel des diverses méthodes connues

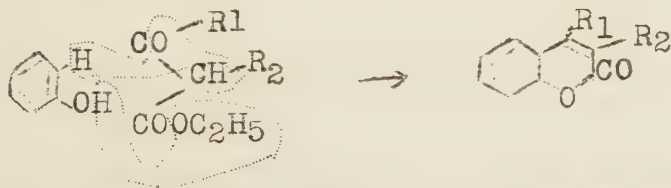
Toutes les synthèses jusqu'ici décrites et qui permettent d'accéder aux α - ou β -benzopyrones font appel à la condensation entre deux dérivés dont l'un est obligatoirement un dérivé phénolique, l'autre pouvant être un ester, un anhydride d'acide ou un chlorure. Cette condensation, dans son essence, se ramène à une réaction de Claisen ou de Perkin, c'est-à-dire une interaction entre un hydrogène actif et un groupement carbonyle, suivie d'une cyclisation. En considérant l'ensemble des méthodes décrites, on peut les classer en deux grands groupes :

1) le dérivé phénolique qui entre en réaction possède au moins un H libre en ortho de la fonction hydroxyle et il n'a pas de fonction carbonylée,

2) le dérivé phénolique renferme en ortho de l'OH un groupement carbonyle,

GROUP 1. - Toutes les méthodes décrites font appel à un phénol d'une part et à un ester renfermant un H suffisamment actif d'autre part.

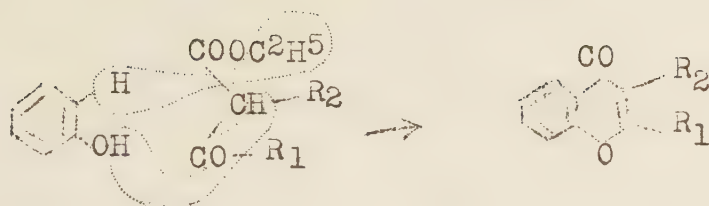
1) - Réaction de Pechmann (203) aboutissant toujours à des coumarines. C'est la condensation d'un phénol et d'un ester β -cétonique en présence d'un déshydratant tel que SO_4H_2 concentré.



Cette réaction générale donne d'excellents rendements avec les phénols substitués et toutes sortes d'esters β -cétoniques. Le phénol lui-même donne cependant de mauvais rendements. De nombreux agents de condensation autres que SO_4H_2 ont été préconisés avec fruits: HCl gazeux, acétate de soude, PO_4H_3 , $\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$, HF , trifluorure de bore, anhydride triphorique etc ... (42)

2) - Réaction de Simonis (209), aboutissant à des chromones.

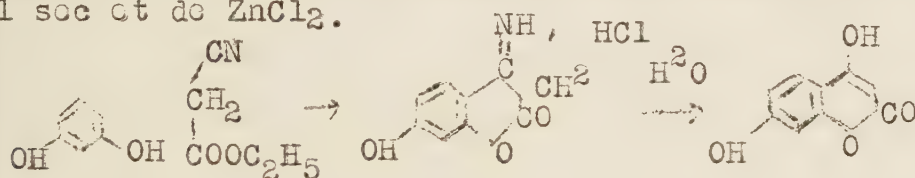
C'est toujours la condensation d'un phénol avec un ester β -cétonique, substitué en α , mais cette condensation est effectuée en présence de P_2O_5 . Ce déshydratant a la propriété de diriger la condensation entre l'ester et le phénol, dans un autre sens que ne le fait SO_4H_2 .



A prime abord, l'agent de condensation semble capable d'orienter la cyclisation dans un sens ou dans un autre. Mais cette méthode donne naissance à des chromones, d'ailleurs avec de mauvais rendements, dans le cas de quelques monophénols, par contre, dans la majorité des cas et en particulier avec les polyphénols, l' α - et le β -naphthol, elle donne naissance à des coumarines; Aussi Robertson et Coll.(39), (40) (31), Chakravarti (41), etc.... concluent à l'influence primordiale de la structure du phénol dans l'orientation de la réaction sous l'influence de P205.

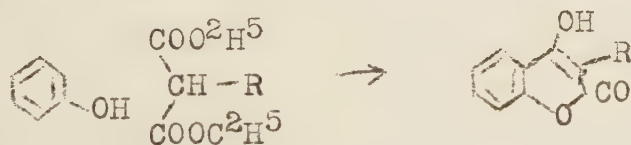
1) Réaction de Sonn (254), aboutissant à des hydroxy-4 coumarines.

L'ester fournissant l'H actif est ici le cyanacétate d'éthyle ou le malonitrile; le phénol est obligatoirement un polyphénol. La réaction s'effectue dans l'éther en présence d'HCl sec et de ZnCl₂.



Notons que les mono-phénols, comme les esters substitués au carbone ne donnent lieu à aucune condensation.

2) Réaction de Urbain et Mentzer (267) aboutissant aux hydroxy-4 coumarines.



L'ester est un malonate substitué en α . La condensation avec le phénol ne fait plus appel à aucun déshydratant; elle s'effectue simplement à haute température. Cette condensation que nous appellerons thermique est révélée très générale. Nous avons nous-mêmes, en collaboration avec Mentzer et Vercier, montré la généralité de cette méthode et son application à de nombreux mono- et polyphénols. Cette réaction qui, à l'origine, ne donnait

o des rendements très faibles, aboutit maintenant très facilement à des rendements élevés en hydroxy-4 coumarines.

) Réaction de Montzer, Molho et Vercier (156), aboutissant à des chromones.

L'esther fournissant l'H est un ester β -cétonique et la condensation thermique est effectuée avec un polyphénol, à haute température, sans le secours d'aucun déshydratant. Nous verrons plus loin les résultats obtenus avec ces deux dernières méthodes.

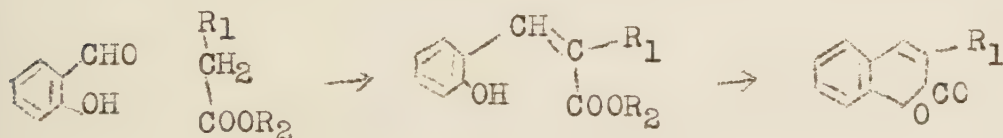


COUPE 2 - Ces méthodes font appel à un dérivé phénolique substitué en ortho par un groupement carbonylé qui est, suivant les cas, un groupement aldéhydique, un groupement carboxyle, ou un groupement cétonique. Les condensations suivies de cyclisation se ramènent à une réaction du type Claisen ou Perkin entre un dérivé carbonylé et un H actif.

Toutes les fois que le dérivé phénolique entre en réaction par son groupement carbonylé, alors que le dérivé extérieur fournit un H actif, nous voyons apparaître une coumarine. Inversement, quand le dérivé phénolique fournit un H actif, alors que le dérivé extérieur entre en réaction par un groupement carbonyle, nous voyons se former des chromones.

) Groupement -CHO.:Toujours des coumarines, non substituées en 4

La condensation s'effectue de la façon suivante :



Si (R₁ = H, CH₃ etc...
) R₂ = CO-CH₂-R₁, la réaction s'effectuant à haute température entre l'aldéhyde salicylique et un anhydride d'acide en présence du sel de Na de l'acide correspondant, nous avons affaire à la réaction de Perkin (204).

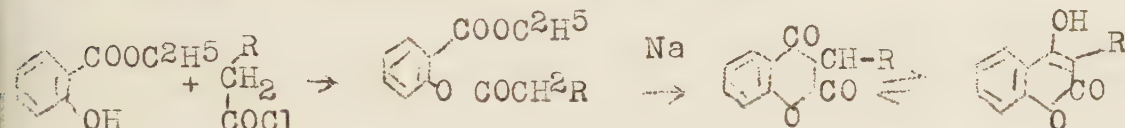
Si (R₁ = COO-C₂H₅, CO-CH₃ ou C≡N,
) R₂ = C₂H₅, la réaction s'effectuant à la température ordinaire en présence de bases organiques comme agents de condensation, nous avons affaire à la réaction de Knoevenagel (124).

- Si au lieu de $R-CH_2-COO-C_2H_5$ ou $R-CH_2-COONa$, on remplace le groupement carboxyle ou carboxéthyle par un groupement $\equiv N$ ($R-CH_2-CN$), la condensation s'effectue également en coumarines. C'est la réaction de Kiewiot (118) pour $R = C_6H_5$ Ghosal (82) pour $R = CO-C_6H_5$.

2) Groupement $-COOH$

a) le groupement $-COOH$ est sous forme d'ester $COO-C_2H_5$.

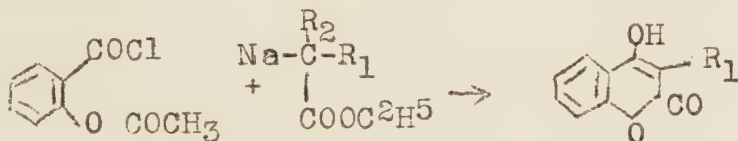
On éthérifie la fonction phénol à l'aide de $R-CH_2-COO-$ et la condensation du produit obtenu en réaction de Claisen entre le $COO-C_2H_5$ du dérivé phénolique et le méthylène du dérivé $R-CH_2-CO$ s'effectue à l'aide de Na à 180° . C'est la réaction de Pauly et Lockemann (201) → hydroxy-4 coumarines.



Pauly et Lockemann ont opéré avec $R = H$. Mentzer (152) & Mentzer Filho et Vercier (154) (268) ont généralisé cette méthode et ont augmenté les rendements avec $R = \text{alcoyle ou aryle}$.

b) le groupement $-COOH$ est sous forme de chlorure d'acide.

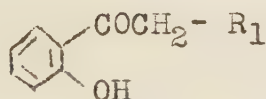
Il faut donc protéger la fonction phénol avec un groupement acétyle. C'est la réaction d'Anschütz (9) qui donne des hydroxy-4 coumarines.



Pour Anschütz, $R_1 = COO-C_2H_5$ ou $CO-CH_3$

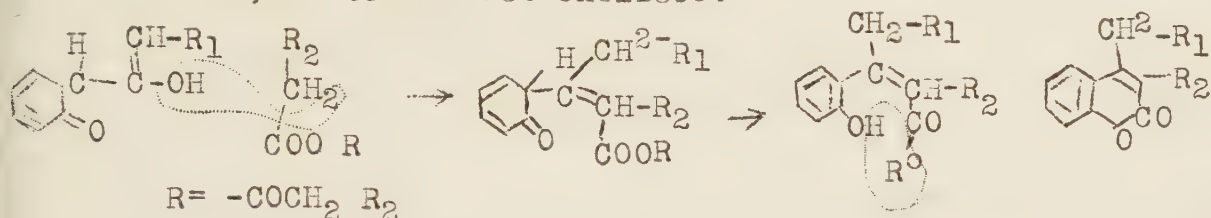
et $R_2 = H$, méthode généralisée par Hilbron et Hill (90) puis par Ghosh (83) et Hultquist (101).

3) Groupement $-CO-R$



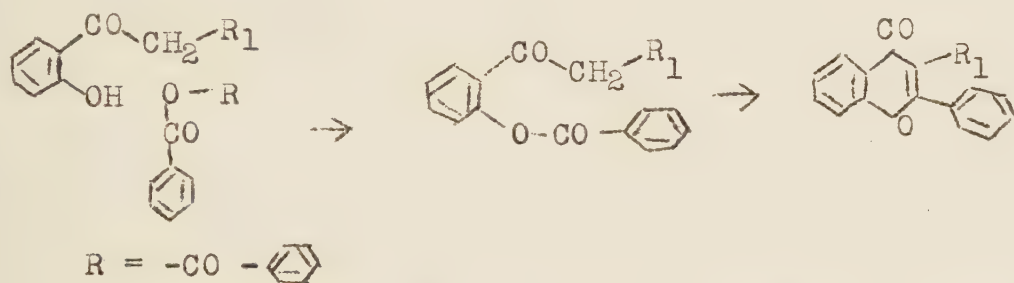
a) Si le groupement cétonique de l'o-hydroxy-cétone sert de radical carbonyle réagissant avec un méthylène fourni par une structure apportée de l'extérieur, il se forme toujours une coumarine. C'est ce qui peut se passer dans la réaction de Kostanecki (129) qui s'effectue comme la réaction de Markin entre l'o-hydroxy-cétone et un anhydride d'acide en

présence du sel de sodium de l'acide correspondant. Dans ces conditions, la cétone est énolisée.

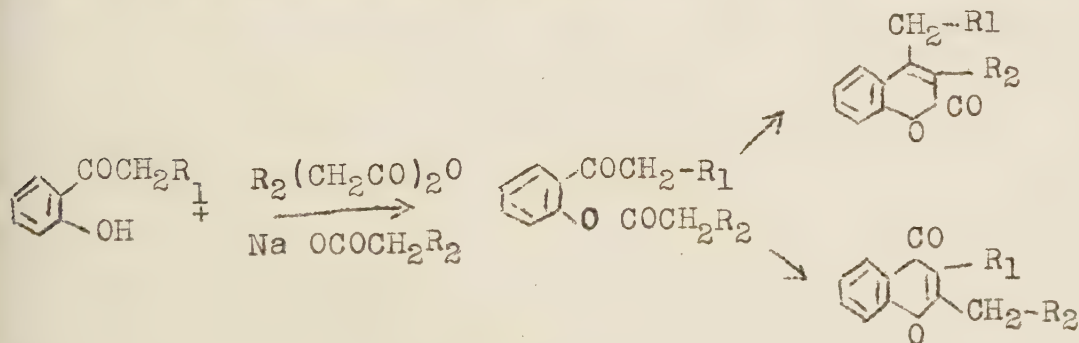


C'est ainsi qu'avec l'anhydride phényl-acétique et le phényl-acétate de Na, (Baker et Eastwood) (17), il se forme la coumarine.

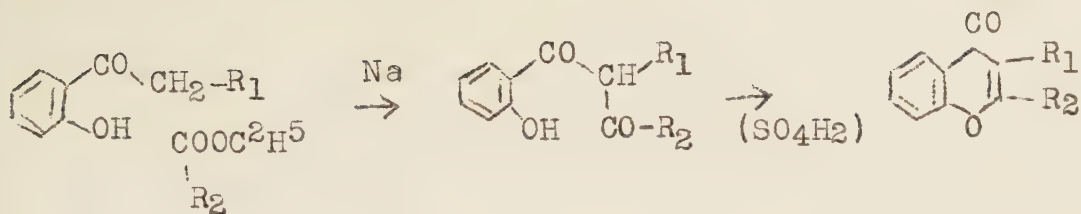
b) Si la structure apportée de l'extérieur ne peut fournir de méthylène actif, et c'est le cas de l'anhydride benzoïque en présence de benzoate de Na (92)(91), c'est le méthylène adjacent au groupement cétonique de l'o-hydroxy-cétone qui fournira les H actifs. Il se forme alors une chromone, toujours par la réaction de Kostanecki.



On conçoit que, entre les 2 cas limites de l'anhydride phényl-acétique et l'anhydride benzoïque, les autres anhydrides puissent donner naissance, par la réaction de Kostanecki (129) à un mélange de chromones et de coumarines, suivant que les H actifs sont fournis par l'o-hydroxy-cétone ou par l'anhydride. On peut schématiser ainsi la réaction :



Par conséquent, pour qu'une o-hydroxy-cétone donne naissance à une chromone, elle doit fournir les hydrogènes actifs; il faut donc que la structure extérieure apporte un groupement carbonyle, afin qu'une réaction de Claisen en présence de Na puisse avoir lieu, suivant le schéma général :

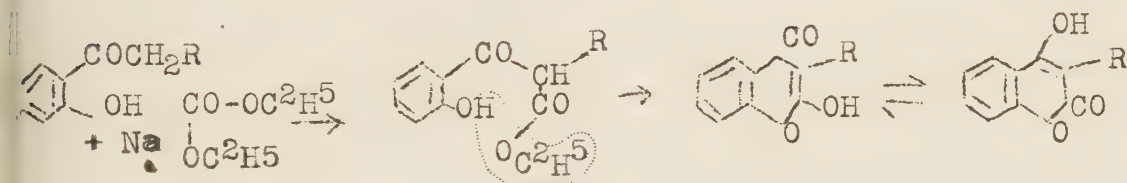


Si $R_2 = \text{COO-C}_2\text{H}_5$, c'est la réaction d'Auwers (13).

Si $R_2 = \text{CH}_3; \text{C}_2\text{H}_5$ etc. c'est la réaction de Wittig (293) la cyclisation de la dicétone intermédiaire fournie par la réaction de Claisen au Na se fait par SO_4H_2 .

$R_2 = \text{H}$, c'est la réaction de Mentzor (152) (la condensation de Claisen et la cyclisation se font en même temps).

c) cas-limite : l'o-hydroxy-cétone fournit le méthylène actif et l'ester extérieur fournit le carbonyle pour aboutir des hydroxy-2 chromones qui sont les formes tautomères des hydroxy-4 coumarines. C'est la réaction de Boyd, Robertson, Whalley (32). L'ester en réaction suivant Claisen est le carbonate d'éthyle et la cyclisation a lieu immédiatement.



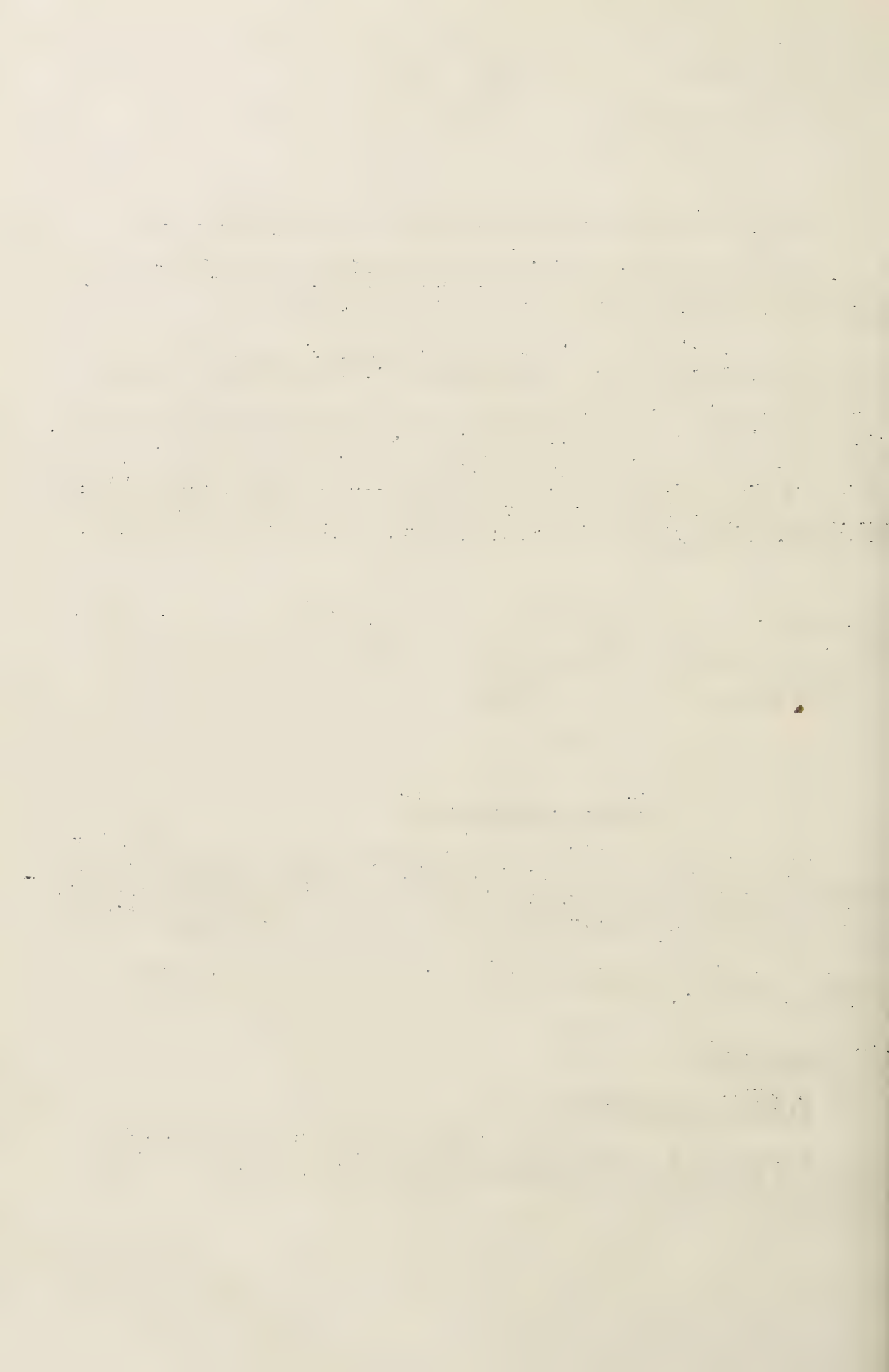
Travaux personnels

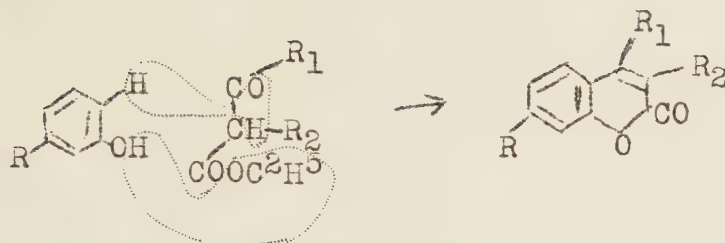
Il est sans contredit que, parmi toutes ces méthodes permettant d'aboutir à des coumarines ou des chromones, seules, les méthodes du Groupe I font appel à des matières premières facilement accessibles et sont par conséquent d'un intérêt pratique incontestable. Ce sont celles que nous avons utilisées.

I)- COUMARINES oooooooooooo

1) ALKYL-4 COUMARINES -

Toutes les coumarines substituées en 4 par un groupement aliphatique ou aromatique ont été obtenues par la réaction de Pechmann.





1) Aryl-3 alkyl-4 coumarines

Les coumarines obtenues grâce à ces méthodes ont été décrites dans le tableau X. Nous réunissons dans le tableau suivant la série d'esters et de phénols qui ont abouti à chacune des coumarines signalées.

Tableau

Esters	Phénols	Coumarines obtenues	F.	C% calc.	C% trouv	H% calc	H% calc
acétyl- nylacétate d'éthyle (F. 142-145° E. 38°)	résorcine	XXII	227°				
	mono- méthyl résorcine	CXXXI	94°				
	m-crésol	CXXX C ₁₇ H ₁₄ O ₃	111°	81,58	81,32	5,64	5,40
	p-bromo- phénol	XXI C ₁₆ H ₁₁ O ₂ Br	134°	60,95	60,71	3,49	3,28
	phloro- glucine	CXXXII C ₁₆ H ₁₂ O ₄	317°	71,63	71,48	4,51	4,33
acétyl- méthoxy- nylacétate d'éthyle (F. 78°)	résorcine	CXXXIII C ₁₇ H ₁₄ O ₄	232°	72,34	72,21	4,96	4,82
propionyl- nylacétate d'éthyle (F. 73° E. 150°)	mono- méthyl- résorcine	CXXXIV C ₁₈ H ₁₆ O ₃	255°	77,12	76,88	5,75	5,70
propionyl- méthoxy- nylacétate d'éthyle (F. 97°)	résorcine	CXXXV C ₁₈ H ₁₆ O ₄	215°	72,97	73,02	5,40	5,38
	mono- méthyl- résorcine	CXXXVI C ₁₉ H ₁₈ O ₄	146°	73,54	73,48	5,80	5,78

Tableau (suite)

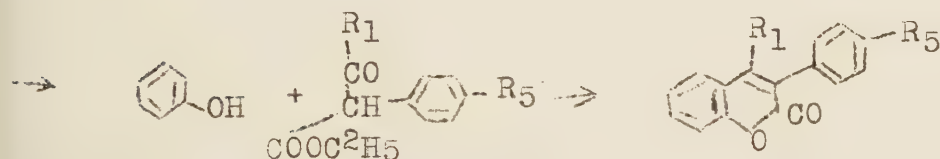
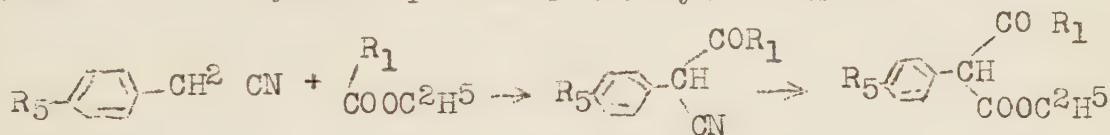
Esters	Phénols	Coumarines	F.	C%	C%	H%	H%
		obtenues		calc.	trouv.	calc.	calc.
butyryl-	résorcine	CXXXIX	242°	77,12	77,00	5,75	5,61
nylacétate		C ₁₈ H ₁₆ O ₃					
d'éthyle	mono-						
	méthyl-	XXIV	142°	77,53	77,27	6,16	6,08
	résorcine	C ₁₉ H ₁₈ O ₅					
butyryl-	résorcine	CXLIV	200°	73,54	73,39	5,80	5,69
méthoxy-		C ₁₉ H ₁₈ O ₄					
nylacétate	mono-						
thyle (F. 39°)	méthyl-	CXLIII	156°	74,07	73,89	6,17	6,23
196-198°)	résorcine	C ₂₀ H ₂₀ O ₄					
	orcine	CXL	287°	74,07	73,91	6,17	6,05
		C ₂₀ H ₂₀ O ₄					
	pyro-	CXLI	264°	69,92	69,59	5,56	5,32
	gallol	C ₁₉ H ₁₈ O ₅					
	hydroxy-	CXLII	272°	69,92	69,71	5,56	5,43
	hydro-quinone	C ₁₉ H ₁₈ O ₅					
isobutyryl-							
p-méthoxy-	résorcine	CLIII	288°	73,54	73,21	5,80	5,62
nylacétate		C ₁₉ H ₁₈ O ₄					
d'éthyle							
isovaléryl-							
p-méthoxy-	résorcine	CLIV	178°	74,07	73,92	6,17	6,12
nylacétate		C ₂₀ H ₂₀ O ₄					
d'éthyle							
n-caproyl-							
méthoxy-	résorcine	CLV	156°	74,55	74,38	6,50	6,31
nylacétate		C ₂₁ H ₂₂ O ₄					
d'éthyle							
n-undecanoyl							
p-méthoxy	résorcine	CLVI	125°	76,74		8,11	
nylacétate		C ₂₇ H ₃₄ O ₄					
d'éthyle							
-phényl-	résorcine	CLIX	283°	80,24	79,85	4,49	4,31
azoyl-acé-		C ₂₁ H ₁₄ O ₃					
te d'éthyle							
-(p-méthoxy-							
nyl)-ben-	résorcine	CLVIII	237°	76,73	76,54	4,68	4,52
yl acétate		C ₂₂ H ₁₆ O ₄					
d'éthyle							
-(p-méthoxy-							
azoyl)phényl	mono-	CLX	167°	77,08	76,88	5,06	4,95
acétate	méthyl-	C ₂₃ H ₁₈ O ₄					
d'éthyle	résorcine						

Techniques expérimentales : Préparation des coumarines.-

On mélange 1/10° de molécule de dérivé phénolique et 1/10° de molécule d'ester β -dicétonique substitué en α par un aryle. On ajoute goutte à goutte en agitant et en refroidissant 50 cm³ d'acide sulfurique concentré. On laisse revenir à la température ordinaire et on abandonne 24 h. Au bout de ce temps, on verse sur de la glace. Il se forme une gomme qui, décantée et traitée par un peu d'alcool dilué, se transforme rapidement en une masse cristalline. On essore, on lave à l'eau et on recristallise dans l'alcool ou dans l'acide acétique.

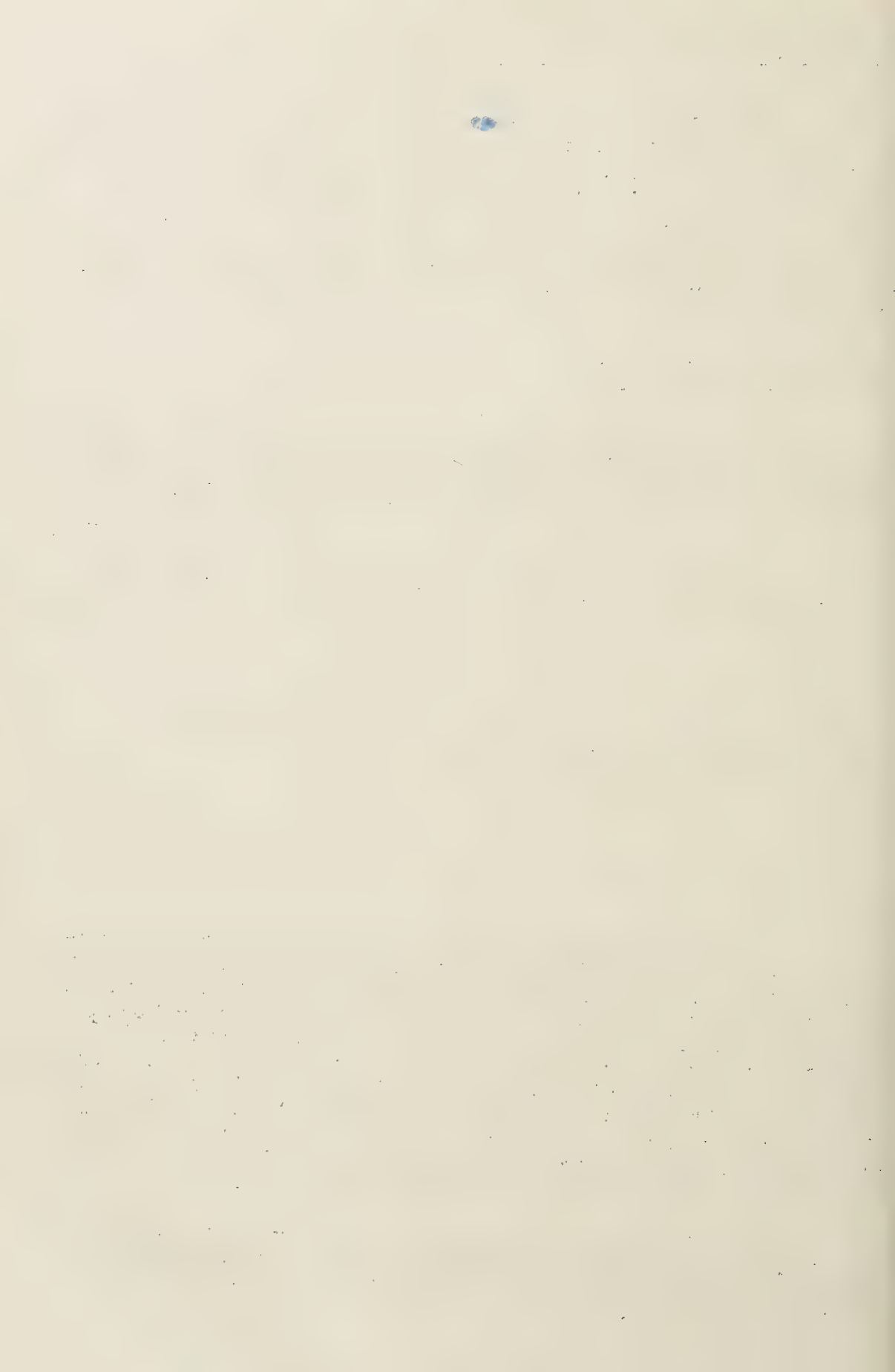
Préparation des esters.-

Les esters dont nous avons besoin ont été préparés en appliquant la méthode générale de Walther et Schickler (277) qui consiste à faire réagir un ester R-COO-C₂H₅ sur le cyanure de benzyle en présence d'éthylate de Na.



A une suspension d'éthylate de Na préparée en partant de 4,6 g d'alcool absolu et 2,3 g de Na en poudre, au sein du toluène, on ajoute en agitant, à une température de 20°, un mélange de 1/10° de molécule de l'ester R-COO-C₂H₅ et 1/10° de molécule du nitrile. On abandonne 1/2 h. à température ordinaire puis on porte à 100° pendant 1 heure en agitant. Après refroidissement, on traite à l'eau glacée; on extrait à l'éther et la solution aqueuse est acidifiée par l'acide chlorhydrique ou par l'acide acétique : le nitrile cristallise. Après recristallisation dans l'alcool, on le transforme immédiatement en ester β -cétonique.

Le nitrile est transformé en imino-éther suivant la réaction de Beckh (22) en présence d'acide chlorhydrique anhydre au sein de l'alcool éthylique. L'iminoéther est hydrolysé en ester.



On fait barboter HCl sec pendant 2 heures dans la solution alcoolique de nitrile, en maintenant la température du mélange vers 40-50°. On chasse l'alcool sous vide. On effectue directement l'hydrolyse de l'imino-éther par traitement à l'eau diluée d'alcool à une température de 80°. L'ester cristallise par refroidissement, sinon, on l'extrait à l'éther, on lave, on sèche et on distille.

Préparation particulière de certaines coumarines.-

Coumarines : XXIII, XXV, CLII, CLVII

Pour toutes ces coumarines, le groupement R₅ (tableau X)⁴⁷ est un hydroxyle libre; elles ont été obtenues par déméthylation des coumarines correspondantes dont le groupement R₅ = OCH₃.

La technique générale de déméthylation utilisée est la suivante : La coumarine méthylée est dissoute dans un minimum d'acide acétique glacial, à chaud; on ajoute une solution d'acide iodhydrique fraîchement distillée (Eb. 125-127°) jusqu'à apparition de trouble. On fait bouillir à reflux pendant 3 h. On concentre sous vide pour enlever l'excès du solvant; on verse sur glace, onessore et on recristallise dans l'alcool. Des résultats du même ordre ont été obtenus avec BrH à 48% au lieu de IH.

coumarine : CXXXVII (F. 115°)

Elle est obtenue en traitant le sel de sodium de la coumarine CXXXIX (fusion 242°) par un excès de bromacétate d'éthyle au sein de l'alcool absolu. On chauffe une heure à reflux, on chasse l'alcool. On traite par l'eau, on acidifie par HCl et on obtient des cristaux que l'on recristallise dans l'alcool.

coumarine : CXXXVIII (F. 178°)

Elle est obtenue en saponifiant CXXXVII par une solution aqueuse alcoolique de soude (trois fois la quantité théorique) à l'ébullition pendant une heure. On chasse l'alcool, on additionne d'eau, on extrait à l'éther. La solution aqueuse est acidifiée par l'acide sulfurique. Des cristaux apparaissent qu'on recristallise dans l'alcool.

coumarine : CLI (F. 102°) obtenue dans les mêmes conditions à partir de CXLIV (F. 200°).

coumarine : CXLVII (F. 185°) (C₂₂H₂₀O₆)

1 g de coumarine XXV (F. 265°) est dissous dans 20 cm³ d'anhydride acétique en présence de 0,2 g d'acétate de

boude. On porte 3 h. à l'ébullition, on concentre l'excès
l'anhydride sous vide. On additionne d'eau et on recristal-
lise dans l'alcool.

analyse : C% calc. 69,46, tr. 69,55 - H% calc. 5,30, tr. 5,21

coumarine : CXLVI (F. 182°)

Elle est obtenue dans les mêmes conditions en trai-
tant CXLIV par l'anhydride acétique.

coumarine : CXLVIII (F. 129°)

obtenue en traitant XXV par l'anhydride propionique.

coumarine : CXLIX (F. 128°)

obtenue avec le chlorure de butyryle n. comme agent acylant.

coumarine : CL (F. 211°)

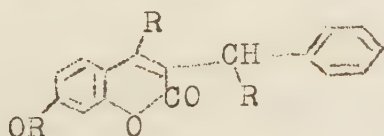
La coumarine dibenzoylée CL a été obtenue en dissol-
vant XXV dans la pyridine et en ajoutant à froid un excès de
chlorure de benzoyle. Après 24 h. on concentre à sec; on
reprend par l'eau et on recristallise dans l'alcool.

coumarine : CXLV (F. 115°)

Ce dérivé est obtenu en ajoutant un 1/10° de molé-
cule de coumarine XXV à 2/10° d'atome de Na en solution
alcoolique anhydre. Après 1/2 h. d'ébullition, on introduit
goutte à goutte un excès de bromure d'éthyle, à froid. On
parfait la réaction par une ébullition de 2 h. au B.M. On
concentre l'alcool sous vide, verse sur H₂O, acidifie par
HCl et on recristallise dans l'alcool.

b) Aryl-méthyl-3 coumarines (Tableau V) p. 19

Elles sont obtenues suivant la réaction de Pechmann :



Coumarine XXVIII - corps déjà décrit (47)

Coumarine XXIX (C₁₉H₁₈O₄) - F. 190°

α-(p-méthoxy-benzyl)-acétyl-acétate d'éthyle + monométhyl-
résorcine + SO₄H₂

L'ester nécessaire à une telle condensation a été obtenu en appliquant la technique préconisée par Leuchs (135) pour l'obtention du benzyl-acétyl-acétate d'éthyle.

2/10° de molécule d'acétyl-acétate d'éthyle sont traités par 1/10° d'atome de Na au sein d'alcool absolu. On ajoute 1/10° de molécule de p-chloro-méthyl-anisol et on chauffe à reflux pendant 8 h. On concentre l'alcool sous vide; on jette sur H₂O, on extrait à l'éther, on lave plusieurs fois à l'eau et on sèche l'éther sur sulfate de soude. On chasse l'éther et on distille. On récupère d'abord l'excès d'acétyl-acétate d'éthyle puis le p-méthoxy-benzyl-acétyl-acétate d'éthyle (Eb. 180°). Il n'y a que très peu de queues de distillation correspondant vraisemblablement à un peu de di(méthoxy-benzyl)-acétyl-acétate d'éthyle.

Analyse : pour C₁₉H₁₈O₄

C% calc. 73,53 - tr. 73,00 - H% calc. 5,85 - tr. 5,64

Coumarine XXX (F. 175°) C₁₉H₁₈O₄

analyse : C% calc. 73,5 - tr. 72,9 - H% calc. 5,80 - tr. 5,74

α-(p-méthoxy-benzyl)-propionyl-acétate d'éthyle + résorcine + SO₄H₂.

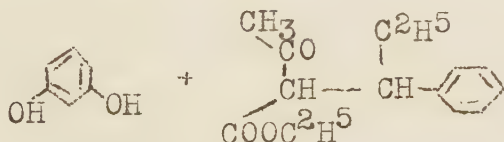
L'ester nécessaire a été obtenu, comme dans l'exemple précédent, en mettant en condensation le propionyl-acétate d'éthyle sodé et le p-chloro-méthyle anisol au sein de l'alcool. Après séparation des têtes et queues de distillation, le produit passe (Eb. 198-200°).

Analyse : pour C₁₉H₂₀O₄ - (ester)

C% calc. 68,16 - tr. 67,5 - H% calc. 7,63 - tr. 7,33

Coumarine XXXI (F. 182°) C₁₉H₁₈O₃

Analyse : C% calc. 77,53 - tr. 77,02 - H% calc. 6,16 - tr. 5,95



(α-acétyl-β-phényl)-valérienato d'éthyle + résorcine + SO₄H₂

L'ester utilisé s'obtient comme dans le cas de l'α-(p-méthoxy-benzyl)-acétyl-acétate d'éthyle on faisant réagir 2/10° de molécule d'acétyl-acétate d'éthyle avec 1/10° d'atome de Na au sein de l'alcool absolu. Quand le dérivé sodé est formé, on ajoute 1/10° de molécule d'α-chloro-propyl-benzène. E.15 = 86-90° (210).

On opère comme précédemment; on recueille l'ester par distillation (Eb. 202°)

Analyse pour $C_{16}H_{22}O_4$ (ester)

C% calc. 69,04 - tr. 68,80 - H% calc. 7,97 - tr. 7,62

(c) Benzocoumarines. - (voir p. 11)

Elles sont obtenues par la réaction de Pechmann.

Coumarine IV (F. 190°)

Elle a déjà été obtenue par Sen et Basu (244) en condensant l' α -naphтол et la cyclohexanone carbonate d'éthyle en présence d'acide sulfurique concentré.

Coumarine III (F. 215°)

On l'obtient de même avec l' α -naphтол et la cyclopentanone-carbonate d'éthyle.

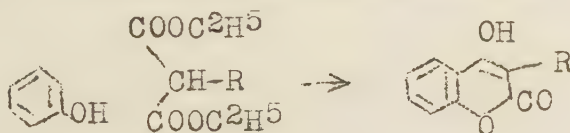
Coumarine IV Bis (F. 193°)

On l'obtient en condensant l' α -naphтол avec la méthyl-4-cyclohexanone-1-carbonate d'éthyle-2.

(2) HYDROXY-4 COUMARINES. -

a) Les diverses méthodes permettant d'accéder aux hydroxy-4 coumarines sont, comme nous l'avons vu, pour la plupart des méthodes faisant appel à un dérivé phénolique substitué en ortho par un groupement carbonylé. Ce sont les méthodes d'Anschutz (10), de Pauly et Lockemann (201) et de Boyd - Robertson et Whalley (32). Cependant, les seules méthodes qui n'exigent que des phénols simples comme matières premières, c'est-à-dire des corps facilement accessibles, sont la méthode de Sonn (254) qui est très limitée dans ses applications, et surtout la méthode d'Urbain et Montzer (267)

Nous avons fait appel dans la synthèse des hydroxy-4 coumarines à la méthode d'Urbain et Montzer qui consiste à effectuer une réaction thermique à 280-300° entre un dérivé phénolique et un malonate substitué, cette méthode étant elle-même la généralisation de la méthode de Baumgarten (20) dans la synthèse des hydroxy-4 quinoléines.



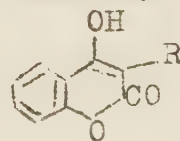
Cependant, alors que cette réaction primitivement ne donnait naissance qu'à des rendements très faibles en hydroxy-4 coumarines, il nous a été donné avec Vercier et Montzer de la transformer en une véritable méthode de préparation; en effet dans certains cas, nous avons pu obtenir 90% de rendement en la coumarine cherchée (154)(268). Vercier (269), dans sa thèse, a décrit les très nombreuses substances obtenues en condensant à haute température un aryl-malonate de diéthyle ou un alkyl-malonate de diéthyle avec de nombreux phénols. Nous nous bornons ici à décrire la méthode générale d'obtention de telles coumarines avec les améliorations que nous y avons apportées, en choisissant comme exemple la phényl-3 hydroxy-4 coumarine.

Une molécule de phényl-malonate d'éthyle (préparée suivant Wislicenus (288)) est additionnée d'1/2 molécule de phénol, dans un petit ballon surmonté d'un petit réfrigérant. On chauffe 48 h. à 250° au bain métallique. Notons qu'on peut réduire les temps de chauffage en distillant au fur et à mesure l'alcool apparu au cours de la réaction et qui gêne considérablement la cyclisation (voir Vercier 269). Au bout de ce laps de temps, la masse réactionnelle brune est versée dans un grand orlen où on la laisse refroidir. On extrait ensuite à chaud avec un grand excès de bicarbonate de soude en solution saturée. On extrait à deux reprises la solution aqueuse refroidie par de l'éther qui entraîne l'excès de phényl-malonate et de phénol qui n'ont pas réagi. La solution aqueuse est ensuite acidifiée par HCl et la phényl-3 hydroxy-4 coumarine cristallise presque pure. Après recristallisation dans l'alcool, on obtient un point de fusion égal à 237° (P.F. non abaissé avec la même coumarine obtenue par la méthode de Pauly et Lockemann).

Cette méthode de dissolution des hydroxy-4 coumarines dans le bicarbonate est très générale, s'appliquant à toutes les hydroxy-4 coumarines que nous avons nous-mêmes préparées et à celles que Vercier a synthétisées. Elle est basée sur le fait que l'hydroxyle en 4 possède un caractère acide déterminé, l'apparentant à une fonction $-COCH$; ce qui permet la séparation aisée du phénol ou du malonate en excès qui ne sont pas solubles dans ces conditions.

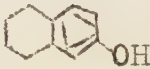
Remarquons en passant que tous les anticoagulants jusqu'ici préparés possèdent un caractère acide net et cela, non seulement dans la série des hydroxy-4 coumarines, mais également pour le diphticol, le P.I.D., le dicoumarol, l'héparine, et les héparinoïdes. D'ailleurs ce caractère acide n'implique pas obligatoirement des propriétés anticoagulantes; de nombreuses hydroxy-4 coumarines du type :

préparées par Montzer (152) sont inactives quoique solubles dans le bicarbonate.



Signalons quelques-uns des corps que nous avons obtenus grâce à cette méthode : (voir également (154, 268))

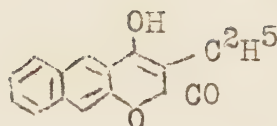
Tableau

Esters	Phénols	Coumarines	F.
phénylmalonate de diéthyle	phénol	XV $C_{15}H_{10}O_3$	239°
	p-crésol	XVII $C_{16}H_{12}O_3$	195°
	p-méthyl-oxy hydroquinone	XVI $C_{16}H_{12}O_4$	220°
	galacol	XVIII $C_{16}H_{12}O_4$	198°
	tétra-hydro- β -naphtol	XIX $C_{19}H_{16}O_3$	178°
			
éthyl-malonate de diéthyle	résorcine	V $C_{11}H_{10}O_4$	235°
	mono-méthyl- hydroquinone	VII $C_{12}H_{12}O_4$	203°
butyl-malonate de diéthyle	résorcine	VI $C_{13}H_{14}O_4$	206°

Cependant la méthode thermique de condensation des phénols avec les malonates présente des limitations; alors que le phényl-malonate donne lieu à d'excellents rendements en coumarines, ceux-ci sont plus faibles avec le méthyl-malonate; ils vont décroissant dès que l'on allonge la chaîne, le butyl-malonate donnant des rendements plus faibles que le méthyl-malonate. L'acétamino-malonate, le carbéthoxy-malonate d'éthyle, le méthylène-bis-malonate d'éthyle et le malonate d'éthyle n'ont pas donné naissance à des coumarines suivant la technique générale décrite. Cependant, avec un autre phénol, le β -naphtol, nous avons pu obtenir des condensations thermiques avec quelques-uns des malonates non-réactifs cités précédemment. Nous avons préparé avec des rendements relativement faibles les corps suivants, tous solubles dans le bicarbonate et de coloration intensément jaune (leur structure n'est pas encore parfaitement définie, le travail étant en cours).

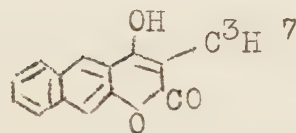
coumarino VIII

2 formes, l'une fondant à 202°
l'autre à 268°



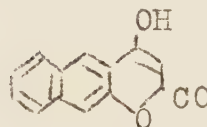
coumarine IX

2 formes, l'une fondant à 160°
l'autre à 230°



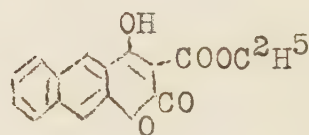
F. 186°

hydroxy-4 benzo coumarine 6-7

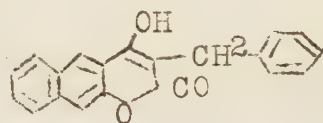


carbomethoxy-3 hydroxy-4 benzo coumarine 6-7

F. 200° (au cours de cette condensation,
on récupère un corps uniquement
soluble dans la soude -
F. 327°, de structure inconnue).



F. 203° Benzyl-3 hydroxy-4
benzo coumarine 6-7



Préparation de quelques malonates mono-substitués utilisés
dans cette étude.-

(1°) - benzyl-malonate d'éthyle :

Ce dérivé a déjà été préparé par Conrad (45) en traitant une molécule de malonate sodé avec une molécule d'alcool absolu par une molécule de chlorure de benzyle. Cependant, il se forme toujours de grandes proportions de dibenzyl-malonate d'éthyle, selon Bischoff et Siebert (25). Louchs (135) a apporté une amélioration à ce procédé en employant un grand excès de malonate par rapport au sodium et au chlorure de benzyle utilisés. Nous-mêmes utilisant cette dernière technique n'avons pu obtenir les rendements attendus; nous avons toujours eu en présence du malonate qui n'a pas réagi, du malonate monobenzylé et du malonate dibenzylé. De nombreux auteurs ont préféré s'adresser à d'autres méthodes de synthèse. Henle (93) réduit le benzal-malonate d'éthyle à l'amalgame d'Al et Wislicenius et Murgeshoimer (291) décarbonylent le benzyl-oxalacétate d'éthyle par chauffage. Nous avons repris cette question de la benzylation directe du malonate en utilisant non pas une solution d'éthylate au sein de l'alcool pour soder le malonate mais la potasse en pastilles. Cette méthode avait déjà été employée par Michaël (169) pour l'obtention du méthyl- et de l'éthyl-malonate d'éthyle mais n'avait jamais été généralisée à d'autres malonates mono-substitués. Nous avons mis au point

réaction qui est d'un emploi très pratique et permet d'éviter l'utilisation d'alcool absolu.

essai (dans un ballon à fond rond).

1/10° de molécule de malonate d'éthyle (7 g) est additionné de 13 g de chlorure de benzyle. On ajoute 6 g de potasse en pastilles et on agite à la main. Un échauffement spontané a lieu. On modère la réaction si besoin en est, en refroidissant sous le robinet. La température à l'intérieur du ballon doit être autour de 60°. Au bout d'1/2 h., la réaction n'est plus exothermique. On traite alors avec un excès d'eau, on extrait à l'éther, on lave à la soude diluée pour éliminer le malonate d'éthyle en excès; on lave à l'eau et on distille. On récupère ainsi une grande partie de chlorure de benzyle qui n'a pas réagi (Eb. 80°) puis 4 g d'une huile distillant à 170° sous 12 mm de Hg : c'est le benzyl-malonate d'éthyle.

Notons qu'il ne s'est pas formé de dibenzyl-malonate.

essai :

Les réactifs sont en même proportion que plus haut, mais on maintient la température du mélange réactionnel 12 h. à 60°. On opère ensuite comme précédemment. On récupère encore du chlorure de benzyle mais le rendement en benzyl-malonate est de 8 g (on obtient environ 1 g de dibenzyl-malonate).

essai :

On utilise 2/10° de molécule de malonate (32 g), 13 g de chlorure de benzyle et 6 g de potasse. Après 6 h. la réaction est terminée. On traite par l'eau, l'huile qui se décante est séparée et séchée sur CaCl_2 . On la distille directement et on obtient 7,5 g de benzyl-malonate.

essai : (mode opératoire à conserver)

32 g de malonate + 13 g de chlorure de benzyle + 12 g de KOH. Après 6 h. de chauffage à une température de 60°, on traite par l'eau. L'huile décantée est soigneusement desséchée par CaCl_2 , puis distillée. On récupère l'excès de malonate mais le benzylmalonate passe sous un vide de 12 mm de Hg, à 170° avec un rendement de 12 g. Nous n'avons pas eu de résidu.

2) - Méthane tricarbonate d'éthyle :

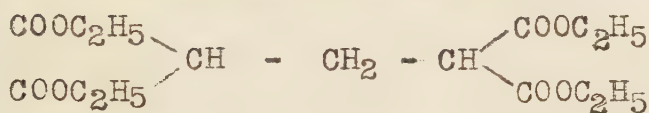
Conrad et Guthzeit (46) avaient déjà préparé ce dérivé : ils obtenaient le malonate sodé dans le benzène à l'aide de sodium en poudre puis ils faisaient réagir à chaud le chloroformiate d'éthyle. Mais les rendements étaient très mauvais. Aussi, Bouvault (31) préfère utiliser le

malonate sodé et le chlorure d'éthoxalylo, alors que Lund et Vogt (140) obtiennent de meilleurs rendements en traitant le malonate au sein de l'alcool par du Mg et du CCl_4 , puis en chauffant avec du chloroformate.

Nous avons cherché à appliquer la méthode à la potasse qui nous avait réussi avec le benzyl malonate : le résultat a été excellent.

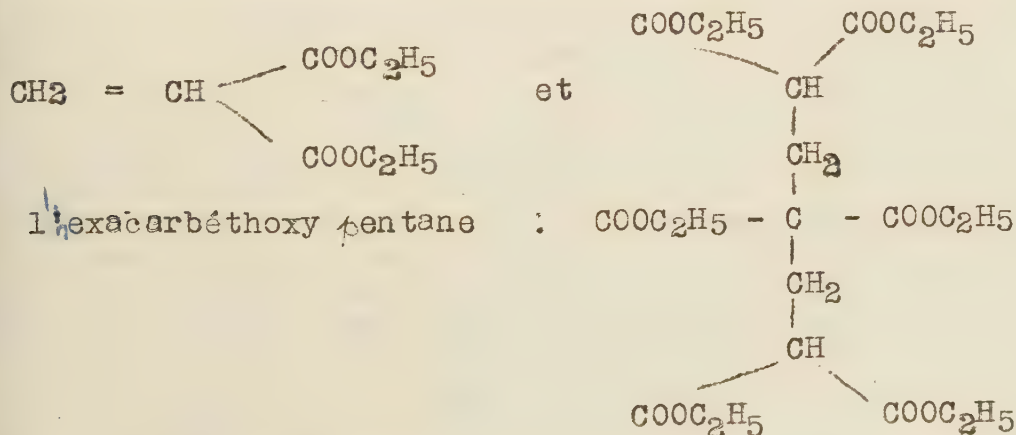
32 g de malonate + 11 g de $\text{ClCOOC}_2\text{H}_5$ sont traités par 8 g de KOH en pastilles. Un échauffement spontané rapide a lieu. Après 3 h. de chauffage à 60° , on traite par l'eau, on acidifie très légèrement, le méthane tricarboxate d'éthyle étant soluble dans les alcalis. L'huile qui se décante desséchée sur SO_4Na_2 est soumise à la distillation. On obtient 9,5 g d'une huile qui passe sous 12 mm à 135° et qui cristallise en glacière (F. 28°).

3°) Méthylène-bis-malonate d'éthyle.-

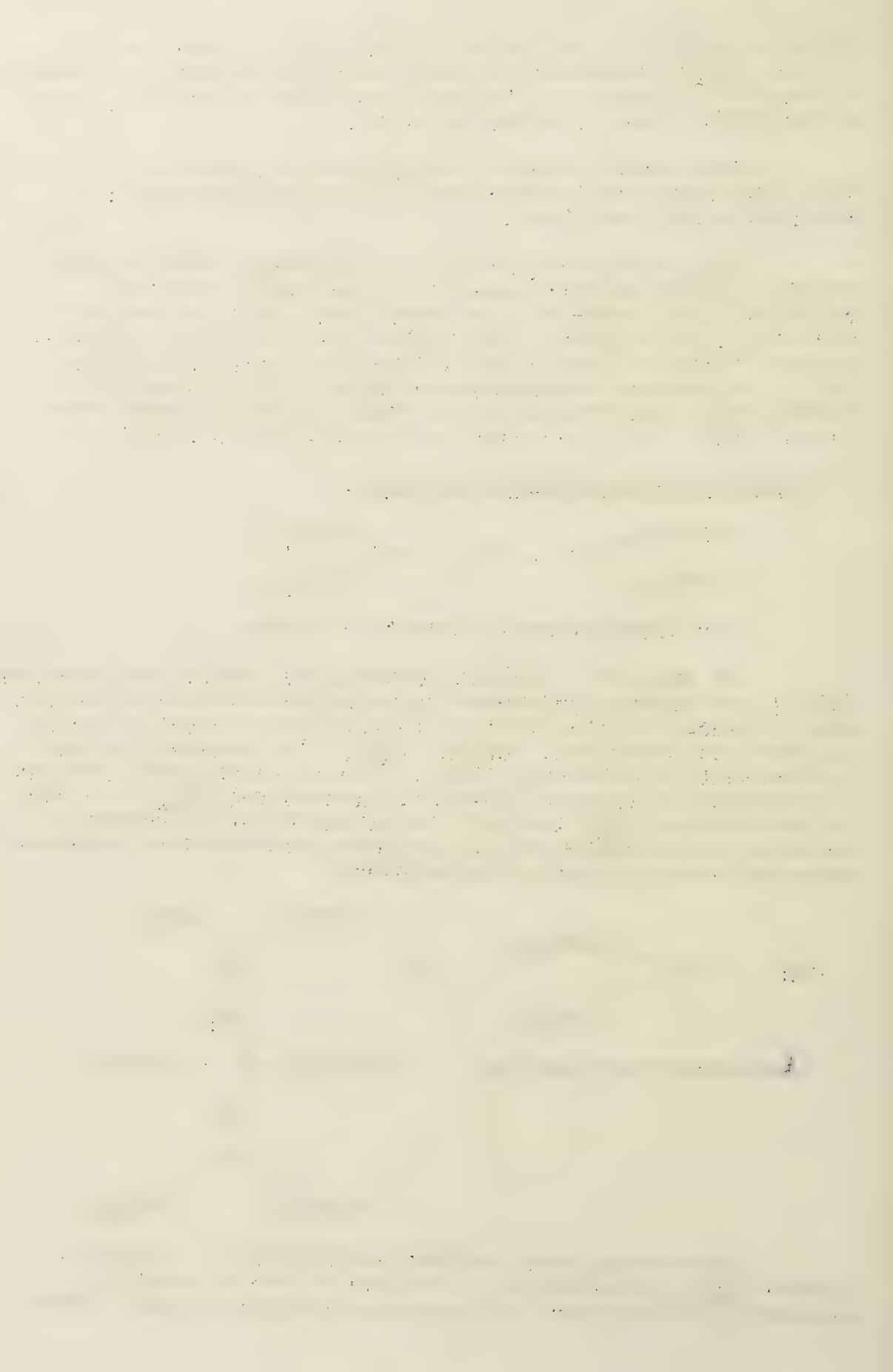


ou dicarbéthoxy-glutarate d'éthyle

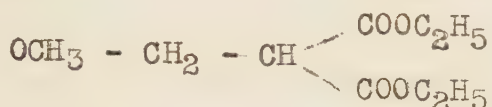
Ce corps a déjà été obtenu par Perkin et Prentice (207); ces auteurs préparent du malonate sodé par le sodium dans l'alcool et ils traitent le tout sous pression par le chlorure de méthylène. Perkin (206) l'a également obtenu en traitant le malonate d'éthyle par le polyoxyméthylène et l'anhydride acétique à $120-140^\circ$. Knoevenagel (123) et par la suite Gault (80) traitent le malonate par le formol en présence de diéthylamine; il se forme cependant au cours de cette réaction du méthylène malonate



Nous avons donc préféré réexaminer la méthode de Kleber (121) qui consiste à traiter le dérivé sodé du malonate d'éthyle par l'éther monochlorométhylque. Kleber

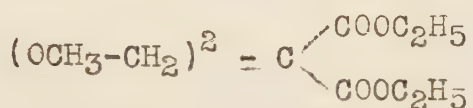


obtient de la sorte un mélange de produits qui distillent sans palier et dont il a isolé le diméthoxy-diméthyl-malonate (séparé en raison du fait qu'il ne donne plus de dérivé sodé après traitement à l'éthylate de Na) et l'acide dicarboxyglutarique après saponification. Simonssen (250) qui a repris la réaction, isole surtout, en opérant dans l'éther :



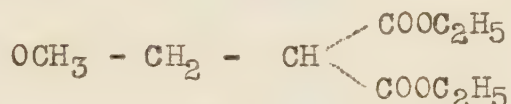
: le méthoxy-méthylène-malonate d'éthyle

Nous avons étudié la réaction en présence de KOH en pastilles et d'un excès de malonate dans le but d'éviter l'apparition du di(méthoxy-méthylène) malonate d'éthyle



Dans ces conditions, nous aurions dû obtenir comme Simonssen :

le méthoxy-méthylène malonate d'éthyle

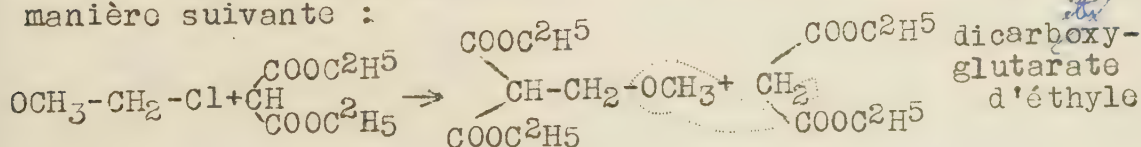


En fait, nous avons isolé uniquement de l'ester dicarboxyglutarique.

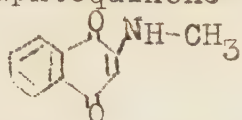
52 g de malonate (2/10° mol.) + 8 g $\text{CH}_2\text{Cl}-\text{OCH}_3$ (1/10° mol.)
+ 7 g KOH

Il y a un échauffement spontané et un précipité apparaît rapidement. La réaction est terminée en 10 minutes. On chauffe cependant encore 1 h. au B.M. puis on traite à l'eau. On décante l'huile formée, on sèche et on distille. On récupère ainsi 10 g de malonate en excès, puis 15 g d'une fraction qui distille entre 190-195° sous 15 mm de Hg. Cette huile est traitée à l'ébullition par HCl dilué jusqu'à dissolution. On concentre ensuite à sec et on obtient une poudre cristalline (F. 97°) qui est de l'acide glutarique. Ce résultat nous permet d'admettre que nous avons obtenu le bis-méthylène-malonate d'éthyle.

La réaction en présence de KOH se comprend de la manière suivante :



Il ressort dès lors qu'en présence de KOH un méthoxyle peut se comporter exactement comme un halogène et ce résultat est à rapprocher des données obtenues dans le domaine des naphtoquinones où nous avons montré que la chloro-2-naphtoquinone-1,4, traitée par la méthylamine, donne :



au même titre que la méthoxy-

et que l'éthoxy-2 naphtoquinone-1,4.

Propyl-malonate d'éthyle :

4°) la méthode à la potasse a été appliquée également au propyl-malonate d'éthyle.

32 g de malonate + 18 g de bromure de propyle + 10 g KOH

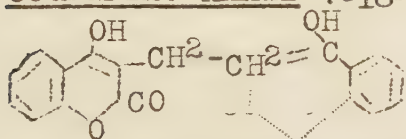
Cependant, si on effectue le traitement comme nous venons de le décrire, tout le distillat passe vers 200°. Il se forme en effet un azéotrope entre le malonate qui n'a pas réagi et le mono-propyl-malonate d'éthyle. Nous avons alors agité le distillat dissous dans l'éther avec une solution de KOH à 10%, et cela, à 3 reprises pour éliminer le malonate en excès. De la sorte, on récupère 7 g de propyl-malonate d'éthyle (Eb. 215°).

Isoamyl-malonate d'éthyle :

Cette méthode permet également d'obtenir l'isoamyl-malonate d'éthyle mais les rendements sont très faibles étant donné que le bromure d'isoamyle réagit très lentement dans ces conditions.

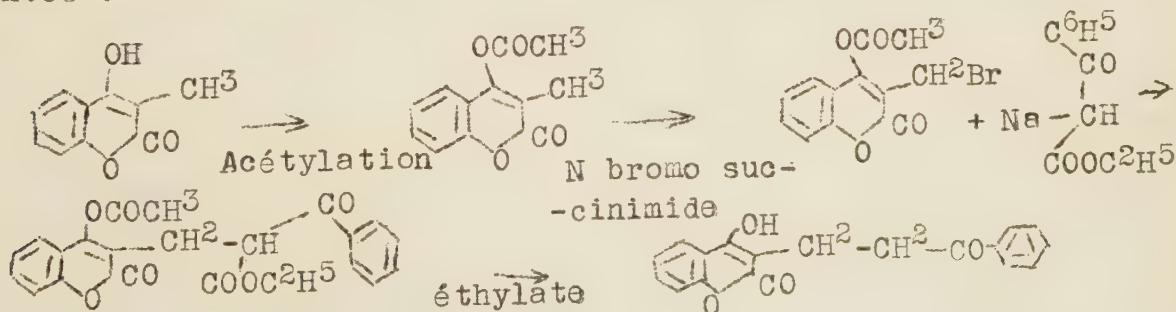
b) HYDROXY-4 COUMARINES à CYCLE POTENTIEL :

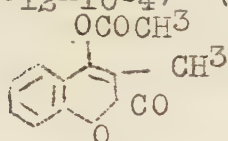
Coumarine XXXII (C₁₈H₁₄O₄) F. 152°



(phényl- α -oxo-n-propyl)-3 hydroxy-4 coumarine

Le corps est obtenu par la série de réactions suivantes :

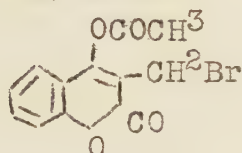


Préparation des intermédiaires -(C₁₂H₁₀O₄) (F. 150°)

acétyl-oxy-4-méthyl-3 coumarine

On chauffe à l'ébullition 5 g de méthyl-3 hydroxy-4 coumarine en présence d'un grand excès d'anhydride acétique (50 cm³). Après 1 h. on verse sur l'eau; des cristaux apparaissent.

Analyse - % calc. 66,05 - tr. 65,85 - H% cal. 4,62 - Tr. 4,53

(C₁₂H₉O₄Br) (F. 172°)

bromo-méthyl-3 acéthyl-hydroxy-4 coumarine

On dissout 0,1 molécule de méthyl-3 acéthyl-hydroxy-4 coumarine dans un excès de CCl₄. On ajoute à la solution 1/10^e de molécule de N-bromo-succinimide fraîchement préparé. On chauffe à reflux pendant 8 h. à l'ébullition. La N-bromo-succinimide qui se trouvait au fond du ballon a disparu et la succinimide libre est en surface. On refroidit, on essore et on concentre la solution à sec. Le résidu cristallin est recristallisé dans l'alcool.

Obtention de la (phényl-α-oxo-n-propyl)-3 hydroxy-4 coumarine

(C₁₈H₁₄O₄) F. 152°

On dissout 2,5 g de benzoyl-acétate d'éthyle dans une solution d'éthylate de Na (0,3 g de Na dans 10 cm³ d'alcool absolu). On ajoute 1,5g du dérivé bromé précédent et on chauffe à reflux pendant 8 h. On chasse l'alcool sous vide; on dissout le résidu dans l'eau, on extrait à l'éther et on acidifie la solution aqueuse par HCl. On recristallise dans l'alcool.

Analyse : C% cal. 73,46 - Tr. 73,4 - H% calc. 4,80 - Tr. 4,92

B - CHROMONES

Comme nous l'avons vu précédemment, les méthodes permettant d'accéder aux chromones substituées en 3 sont relativement compliquées. En effet, la méthode de Simonis (209) donne de mauvais rendements et souvent, avec les

polyphénols, on obtient des coumarines au lieu des chromones attendues. Toutes les autres méthodes font appel à un dérivé phénolique substitué en ortho par un groupement carbonyle : méthodes d'Auwers (13), de Wittig (293), de Mentzer (152) et de Kostanecki (129).

Travaux personnels

Nouvelle méthode de synthèse des chromones.-

Ayant entrepris de généraliser la méthode thermique que nous avons étudiée avec Mentzer et Vercier dans le cas des malonates et des phénols, nous avons appliqué cette méthode à la condensation des esters β -cétoniques et des phénols.

Les premiers essais furent décevants car le phénol traité par un acétyl-acétate d'éthyle substitué n'a pas donné naissance à haute température à des composés définis; par contre, dans le cas d'un mélange de résorcine et d'ester β -cétonique, substitué ou non, nous avons obtenu rapidement et avec d'excellents rendements, des substances différentes des coumarines et que nous avons définies avec Mentzer et Vercier comme étant des chromones (156,157).

Nous allons décrire à l'aide d'un exemple la méthode générale utilisée pour la synthèse des chromones, méthode qui, à l'heure actuelle, est valable pour les polyphénols d'une part et les esters β -cétoniques, mono-substitués ou non, d'autre part.

1/10° de molécule de cyclohexanone carbonate d'éthyle + 1/10° de molécule de résorcine sont chauffés 2 heures au bain métallique à petite ébullition. On utilise comme réfrigérant une canne de verre. Après refroidissement, on additionne le mélange d'eau et d'un peu d'alcool pour homogénéiser. Des cristaux apparaissent, on recristallise dans l'alcool - F. 277°. On peut également dissoudre le tout dans la soude diluée, laver par l'éther et acidifier la solution aqueuse, ce qui fait apparaître des cristaux.

Nous avons soumis le même mélange à une condensation du type Pechmann, en présence d'acide sulfurique concentré. Nous avons de cette façon obtenu des coumarines. L'épreuve du point de fusion mélangé nous a permis de constater que le dérivé fourni par la méthode thermique était différent de la coumarine correspondante. Par ailleurs, nous avons synthétisé les chromones correspondantes par des méthodes éprouvées (Kostanecki (129), Crabtree et Robinson (47) et nous avons pu constater que les produits préparés par la méthode thermique étaient bien des chromones (Point de fusion mélangé non abaissé). Nous avons réuni sur le tableau suivant les diverses substances ainsi obtenues :

Esters	Phénols	Méthodes de condensation		
		Condensation thermique chromones	Condensation selon Crabtree et Robinson	Condensation selon Pechmann : coumarine
Benzyl- acétate d'éthyle	résorcine	XXXII - $C_{17}H_{14}O_3$ F. 282° méthyl-2 benzyl-3 hydroxy-7 coumarine (acétate : F. 120°)	XXXII - $C_{17}H_{14}O_3$ F. 282° (acétate : F. 121°)	Benzyl-3 Méthyl-4 hydroxy-7 coumarine F. 225°
n-propyl- acétate d'éthyle	résorcine	XXXIV - $C_{13}H_{14}O_5$ F. 201° méthyl-2 n-propyl-3 hydroxy-7 coumarine F. 201° (acétate - F. 72°) (°) + un peu de coumarine (acétate F. 115°) F. 171° Spectre U V: Max. 250-295 de la chromone	selon Kostanocki	Spectre U V: Max. 283-325° n-propyl-3 méthyl 4 hydroxy-7 coumarine -acétate F. 115° F. 171°
cyclo- hexanone	résorcine	XXXV - $C_{13}H_{12}O_3$ F. 277° tétra hydro 1-2-3-4 hydroxy 7 xanthone C% cal. 72, 2-tr. 71, 95 H% calc. 5, 55-tr. 5, 22		cyclo-héxène-3, 4 hydroxy-7 coumarine F. 202° - $C_{13}H_{12}O_3$ (244) (55)
carbonate d'éthyle				
cyclo- hexanone carbonate d'éthyle	2-hydroxy 1-5-naph- taline	XXXVI - $C_{17}H_{14}O_3$ F. 335° tétra hydro 1-2-3-4 (o-hydroxy benzo) 5-6 xanthone		

(°) - dans le cas du n-propyl-acétyl-acétate d'éthyle, nous avons pu isoler à côté d'une majorité de chromone un peu de coumarine ; par conséquent, la cyclisation qui en réaction thermique se fait plutôt dans le sens chromone peut parfois, suivant la

Interprétation du mécanisme d'obtention des benzopyr-
rones par condensation des esters maloniques et β -cétoniques
avec les phénols.-

Les résultats expérimentaux nous ont montré :

1°) que l'acétyl-acétate d'éthyle comme le malonate d'éthyle portant 2 substituants sur le méthylène ne peuvent se transformer en coumarine ou en chromone à l'aide de catalyseurs comme par réaction thermique.

2°) que l'acétyl-acétate d'éthyle mono-substitué ou sans substituant aboutit par condensation avec des phénols en présence d'acide sulfurique concentré et de nombreux autres catalyseurs uniquement à des coumarines.

3°) que le malonate d'éthyle mono-substitué ou non ne donne lieu à aucune condensation avec les phénols si on opère en présence de SO_4H_2 concentré ou d'autres catalyseurs.

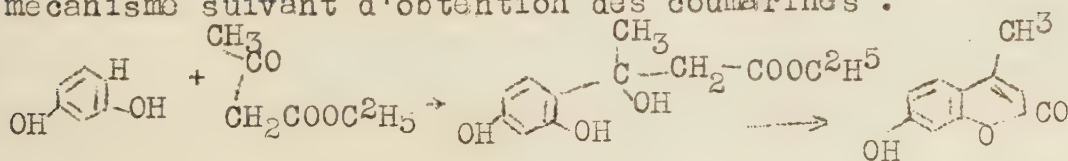
4°) que les malonates d'éthyle mono-substitués se condensent avec tous les phénols en réaction thermique pour donner naissance aux hydroxy-4 coumarines.

5°) que les acétyl-acétates mono-substitués se condensent avec les monophénols seulement en présence spécifiquement de P_2O_5 pour aboutir aux chromones, alors qu'avec les polyphénols les mêmes esters donnent dans les mêmes conditions uniquement des coumarines.

6°) que les acétyl-acétates mono-substitués ou non, se condensent avec les polyphénols en réaction thermique pour aboutir en majorité aux chromones et secondairement aux coumarines.

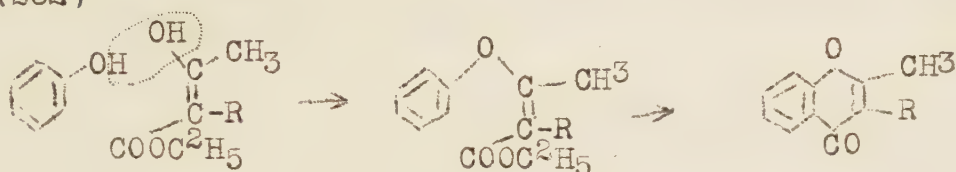
En fonction de ces résultats, nous avons essayé d'envisager le mécanisme de la réaction entre les phénols et les esters β -cétoniques d'une part puis les esters maloniques d'autre part, réaction aboutissant à des chromones ou à des coumarines.

Ahmed et Desai (3) dans le cas de la condensation d'un ester β -cétonique et d'un phénol imaginent le mécanisme suivant d'obtention des coumarines :

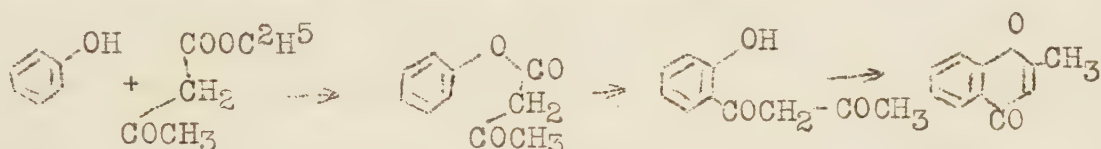


Ils se fondent sur la démonstration par Robertson (232) de la présence d'acide cinnamique correspondant comme intermédiaire. L'H en ortho de l'OH du phénol se combine avec le CO du β -ester. Cet H doit être suffisamment actif.

Dans le cas d'obtention de chromones, selon la méthode de Simonis (3), Robertson propose un mécanisme différent. (232)

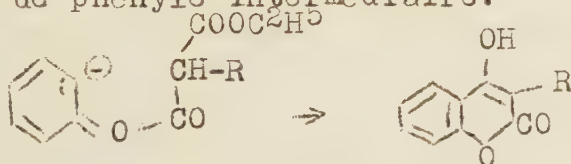


Le groupement énolique de l'ester β -cétonique se déshydrate directement avec l'OH du phénol. Alors qu'Ahmed et Desai (3) admettent dans ce cas un tout autre mécanisme :



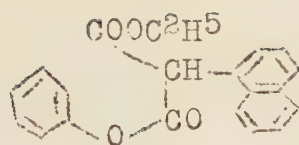
L'H en ortho du phénol n'est pas actif, si bien que seul l'H de l'OH phénolique entre en réaction. Pour Robertson, c'est le groupement cétonique de l'ester (sous forme d'énol) qui réagit avec l'OH phénolique. Pour Ahmed et Desai, c'est au contraire le groupement $-COO-C_2H_5$ qui réagit avec apparition intermédiaire d'un ester de phényle se transposant suivant la réaction de Fries.

Pour comprendre l'obtention des hydroxy-4 coumarines en réaction thermique par la condensation entre les malonates et les phénols, Vercier (269) admet également l'apparition d'un ester de phényle intermédiaire.



Les seules fois où l'on ait, jusqu'ici, isolé un ester de phényle dans ce genre de réaction (Urbain et Montzer 267), c'est au cours de la condensation thermique du malonate d'éthyle et de plusieurs phénols. Mais Urbain et Montzer n'ont pu réaliser la cyclisation de ces esters une fois formés.

Cependant Beaudet (communication personnelle) en chauffant du phénol et du naphtyl malonate d'éthyle en présence de toluène a pu isoler un produit de transestérification,



lequel soumis à une condensation thermique à température beaucoup plus élevée donne naissance à l' α naphthyl-3 hydroxy-4 coumarine.

De même Bader et Vogel (37 bis) ont réalisé récemment une transestérification en chauffant l'acétyl-acétate d'éthyle ou le malonate d'éthyle en présence d'un alcool supérieur à la température du bain-marie.

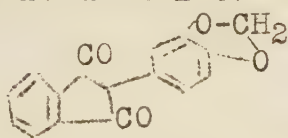
Or, par réaction thermique, les polyphénols donnent naissance aux chromones avec les esters β -dicétoniques alors qu'en présence de catalyseurs, les mêmes polyphénols donnent lieu strictement aux coumarines.

Les mêmes polyphénols aussi bien que les monophénols chauffés en présence de malonates mono-substitués donnent lieu aux hydroxy-4 coumarines alors qu'en présence de catalyseurs, la réaction n'a pas lieu. Ces faits, en apparence contradictoires exigent une interprétation cohérente d'ensemble que nous avons tentée.

Notre hypothèse a pour point de départ les travaux d'Eistert (59) qui a montré que si les esters β -cétoniques sont fortement enolisables en raison de l'effet électromère, par contre les esters maloniques ne donnent pas sensiblement naissance à une forme enolisée.

Notre hypothèse est donc la suivante : en présence d'un catalyseur d'ionisation tel que SO_4H_2 , AlCl_3 , HCl , $\text{C}_2\text{H}_5\text{ONa}$, etc..., la condensation a lieu entre l'ester enolisé et le phénol, alors qu'en condensation thermique, c'est la forme cétonique de l'ester qui est apte à réagir avec le phénol : ceci étant valable pour les esters ayant au moins 1 H actif, que ce soient des esters β -cétoniques ou des malonates.

Nous venons d'apporter une confirmation à cette hypothèse par l'étude spectrale effectuée sur 1 β -dicétone susceptible d'enolisation.



Une telle substance sous forme dicétonique vraie en solution dans l'hexane ne présente qu'un spectre continu sans maxima alors qu'en solution alcoolique un équilibre cétone énolique apparaît, présentant un spectre défini à 3 maxima : 280 - 335 - 470 m μ

Le 3ème maximum est caractéristique de la forme énolique seule, c'est lui que nous avons étudié en fonction de la température.

La dissolution dans la soude alcoolique transforme la totalité du dérivé en sel de Na rouge orange. La solution ainsi obtenue ne contient plus que la forme énolique, ce

qui se traduit spectralement par une augmentation de l'ionisation du groupement OH et déplacement bathochrome du maximum d'absorption à 475 mμ, en même temps, élévation du E max.

Par contre, si au lieu d'ajouter une solution de soude à la solution alcoolique, on chauffe seulement cello-ci vers 60° et que l'on détermine immédiatement le spectro, on constate, à l'inverse, un déplacement hypsochrome du maximum à 465 mμ avec diminution du E max. qui passe par exemple de 820 à 718. Ce phénomène est la traduction d'une réduction de l'ionisation de l'OH et par conséquent de la proportion de forme énolique. Par voie de conséquence, la forme cétonique augmente au cours de l'élévation de la température.

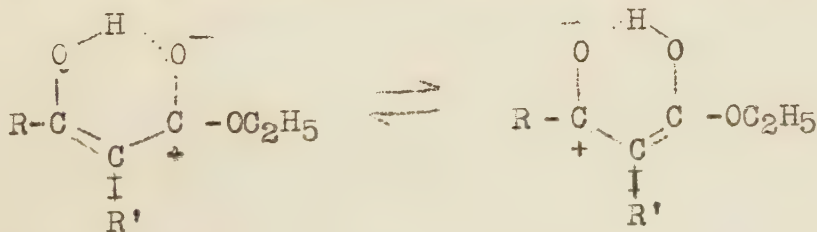
Par refroidissement, l'équilibre précédent céto-éno-énolique se rétablit, le maximum revenant à 470 mμ et le E max. réaugmentant à sa valeur initiale.

Il serait évidemment intéressant d'effectuer de telles déterminations aux hautes températures où nous opérons les condensations thermiques, mais les cuves du spectrophotomètre n'y résistent pas. Cependant, déjà à l'oeil nu, il est facile de constater qu'une solution alcoolique de β-dicétone, qui est normalement rouge orangée par la présence de l'énol, vire au jaune par simple chauffage à l'ébullition et redevient rouge orangée au refroidissement. La solution dans l'hexane où seule la forme dicétonique persiste est incolore.

Les esters β-cétoniques donnent lieu à un équilibre céto énolique; suivant que la forme cétonique est favorisée (condensation thermique), il se forme 1 chromone, ou si c'est la forme énolique qui prédomine (catalyseurs), c'est la coumarine qui apparaît. Les malonates n'ayant pas de forme énolique ne réagissent effectivement pas en présence de catalyseurs, alors qu'en condensation thermique, la forme carbonylée, devenant réactive, donne naissance aux hydroxy-2 chromones (ou hydroxy-4 coumarines). Nous avons tenté de représenter ces données de la façon suivante :

1°) Cas des esters β-cétoniques.-

$R-CO-CH-COOC_2H_5$ que l'on peut écrire sous la forme chélatée suivante, mettant nettement en relief l'équilibre céto-énolique :

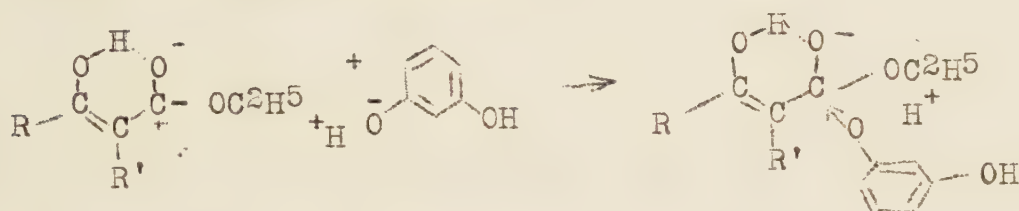


forme énolique

forme cétonique

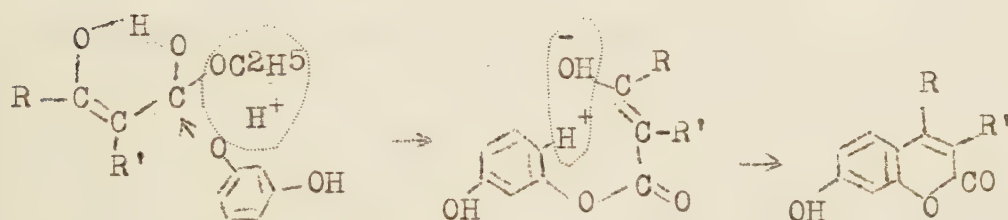
En présence de catalyseurs, l'équilibre est déplacé vers la gauche, alors qu'en réaction thermique, il se déplace vers la droite.

a) en présence de catalyseurs :

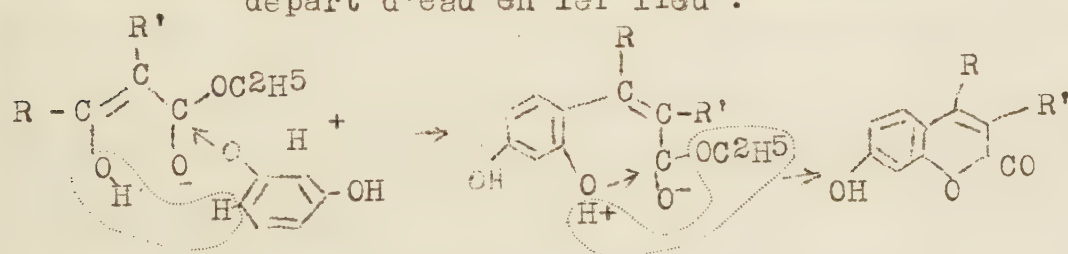


La transformation de ce corps intermédiaire peut suivre deux cours différents suivant qu'il y a d'abord une transestérification suivie de cyclisation, ou bien une fixation de l'ester en ortho de l'OH phénolique suivie de cyclisation par départ d'alcool.

1°) Transestérification.-
départ d'alcool en 1er lieu :

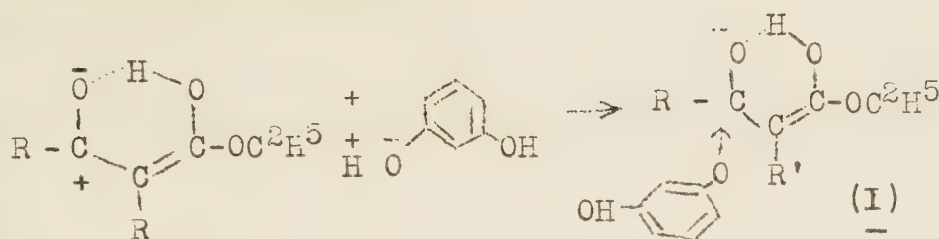


2°) Fixation en ortho de l'oxydrile phénolique.-
départ d'eau en 1er lieu :



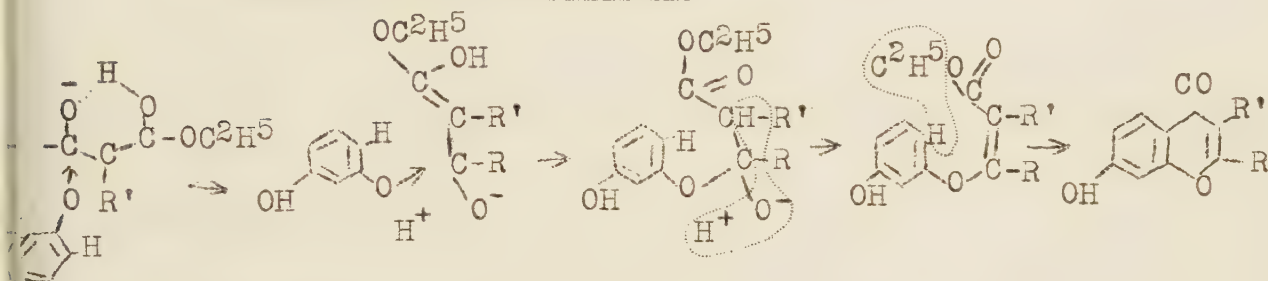
Dans le cas présent, c'est cette dernière écriture qui semble la plus plausible puisque Robertson a montré l'existence intermédiaire de l'acide cinnamique correspondant.

b) en réaction thermique.-

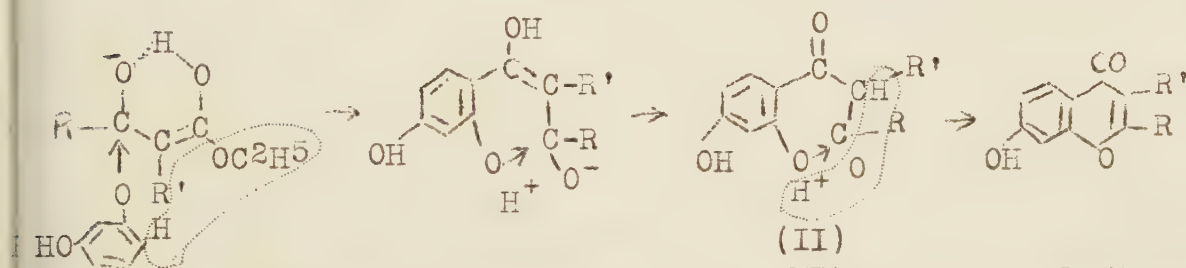


Comme précédemment, la réaction peut suivre deux cours suivant qu'il y a d'abord départ d'alcool ou d'eau.

1°) départ d'eau en 1er lieu -



2°) départ d'alcool en 1er lieu -



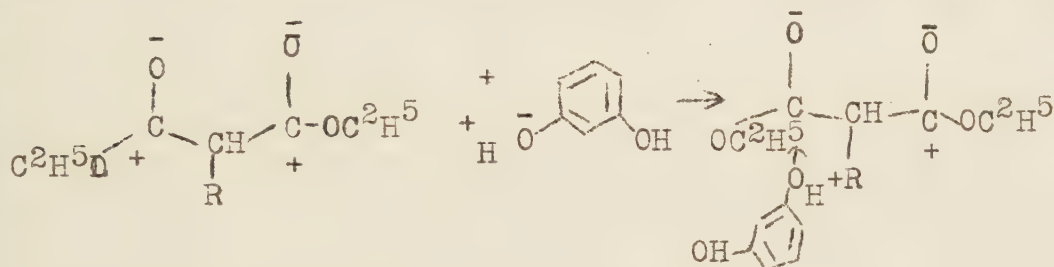
On ne peut encore définir lequel de ces deux mécanismes prévaut.

Il peut se faire que l'intermédiaire (I) étant formé, (qui ne peut donner naissance qu'à des chromones), le départ d'eau et d'alcool soient simultanés puisqu'on recueille toujours au cours de la condensation thermique de l'alcool contenant de l'eau.

Mais le 2ème mécanisme qui exige d'abord un départ d'alcool peut être concevable car l'intermédiaire (II) qui serait une ortho-hydroxy-dicétonne est capable, par simple chauffage, de donner naissance à une chromone. En effet, Doyle et Coll. (58 bis) ont réussi à cycliser en flavones des o-hydroxy-dicétones par simple chauffage au-dessus du point de fusion (Voir également Nowlan et Coll. (190 Bis) et Dunno et Coll. (58 ter)).

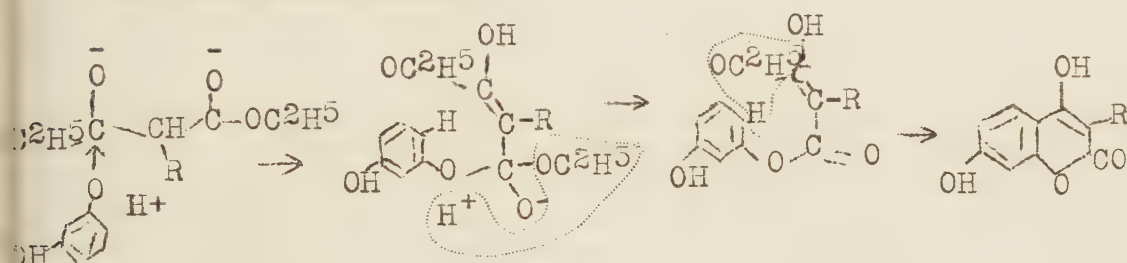
2°) Cas des malonates.-

Comme la réaction n'a pas lieu en présence de catalyseurs, nous admettrons que seule la forme carbonyle existe et la structure suivante peut être envisagée en réaction thermique qui crée une polarisation de la molécule :

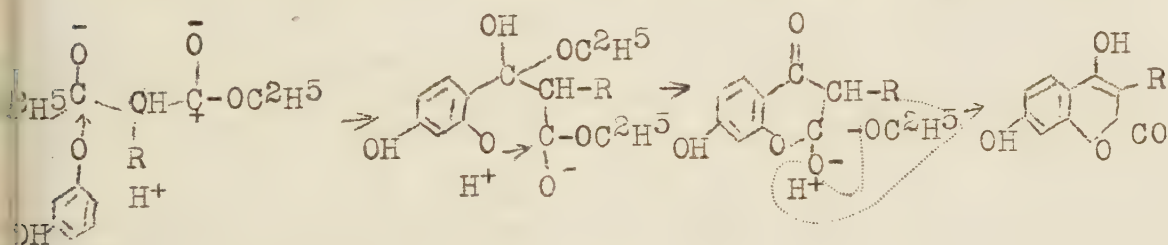


là encore, deux possibilités peuvent avoir lieu, suivant qu'il y a d'abord transesterification ou fixation en ortho de l'hydroxyle phénolique.

1°) Transesterification -



2°) Fixation préalable en ortho de l'hydroxyle phénolique



Dans le cas des monophénols, le premier mécanisme semble prévaloir puisqu'un malonate de phényle et d'éthyle a pu être isolé par Beaudet préalablement à toute cyclisation.

Dans le cas des polyphénols, on ne peut savoir si le premier ou le deuxième mécanisme est valable, mais le deuxième est plausible car on sait que l'H en ortho de l'hydroxyle est fortement activé dans de tels phénols.

Donc d'après cette conception en réaction catalytique, la condensation a lieu avec les esters ayant au moins 1 H

actif et capables de se tautomériser en une forme enolique. La condensation en présence de catalyseurs a lieu dès lors sous l'effet électromère et seules les formes tautomérisables des esters réagissent avec les phénols pour aboutir aux coumarines. Cette enolisation est fortement accentuée par les catalyseurs tels que SO_4H_2 et éthylate. Les malonates n'ayant pas de forme tautomère dans ces conditions, la condensation n'a pas lieu.

En condensation thermique, les formes cétoniques sont les plus réactives selon notre hypothèse, l'effet électromère n'intervient presque plus et la condensation se fait sous les effets inductifs A et F qui sont considérablement exaltés par la température (Voir Eistert). Dans ces conditions, les malonates sont capables de réagir avec les phénols pour donner des hydroxy-4 coumarines (qui sont des tautomères d'hydroxy-2 chromones) et les esters β -cétoniques donnent naissance aux chromones.

Cependant, en condensation thermique, nous avons vu que les esters β -cétoniques peuvent donner lieu, à côté des chromones, à de petites quantités de coumarines; ce phénomène peut se comprendre du fait que les esters β -cétoniques présentent toujours spontanément un peu de forme enolique laquelle se transformera en coumarine et non en chromone. Effectivement, le benzoyl-acétate d'éthyle qui est beaucoup moins énolisé spontanément que l'acétyl-acétate d'éthyle (Parriaud et Modiano, Bull. Soc. Chim. sous presse) n'a pas donné naissance à des coumarines en condensation thermique, alors que les acétyl-acétates dans les mêmes conditions en laissent apparaître (156).

Cependant, alors que les malonates en réaction thermique permettent la synthèse des hydroxy-2 chromones même avec les monophénols (il faut toutefois noter que la réaction est beaucoup plus rapide et les rendements meilleurs avec les polyphénols), les esters β -

- cétoniques ne réagissent pas avec les monophénols dans les mêmes conditions. Ce phénomène peut très bien se comprendre à la lumière de notre hypothèse. En effet la réaction thermique est sous l'effet inductif A et F et non sous l'effet électromère. Or, dans la classification d'Eistert (59) le groupement COOC_2H_5 est beaucoup plus actif que le groupement CO quand il s'agit des effets inductifs alors que pour les effets électromères, c'est au contraire le groupement CO qui est plus actif que COOC_2H_5 . Les effets inductifs gouvernant la condensation thermique, l'effet de conjugaison du COOC_2H_5 est beaucoup plus élevé que l'effet du CO et dès lors un ester β -cétonique exigera, pour qu'il y ait condensation avec un phénol en réaction thermique, une activation (de l'H en ortho par rapport à l'hydroxyle du phénol) plus grande que ne l'exige un malonate. Le travail protothrope est insuffisant dans le cas d'un

monophénol et d'un ester β -cétonique et la condensation n'a pas lieu.

Cette façon de représenter les condensations nous permet dès lors une règle très générale valable pour les méthodes du groupe I comme du groupe II.

Chaque fois que la structure étrangère au phénol (l'ester β -cétonique, par exemple) réagit avec la structure phénolique (portant un H actif) par un groupement carbonyle suivant une réaction du type Claisen, on aboutit à des chromones (les hydroxy-4 coumarines sont des formes tautomères des hydroxy-2 chromones). Par contre, quand la structure étrangère au phénol réagit par un groupement énol, celui-ci étant sur l'ester ou sur le noyau phénolique en ortho de l'OH, on aboutit à des coumarines.

II - SERIE NAPHTALENIQUE

A - TETRALONES

o o c o o o o o s s s s

1) Arvl-méthylaldène-2-tétralones 1:

Tous les dérivés de cette série que nous avons décrits dans le tableau VI, ont été obtenus par condensation de la tétralone-1 ou de la méthoxy-6 tétralone-1 avec un aldéhyde aromatique en présence d'un agent de condensation tel que la soude en solution aqueuse, l'éthylate de Na ou la pipéridine (172) Un essai de condensation entre la tétralone et l'aldéhyde anisique en présence d'anhydride acétique et d'acétate de Na n'a ^{donné} aucun résultat.

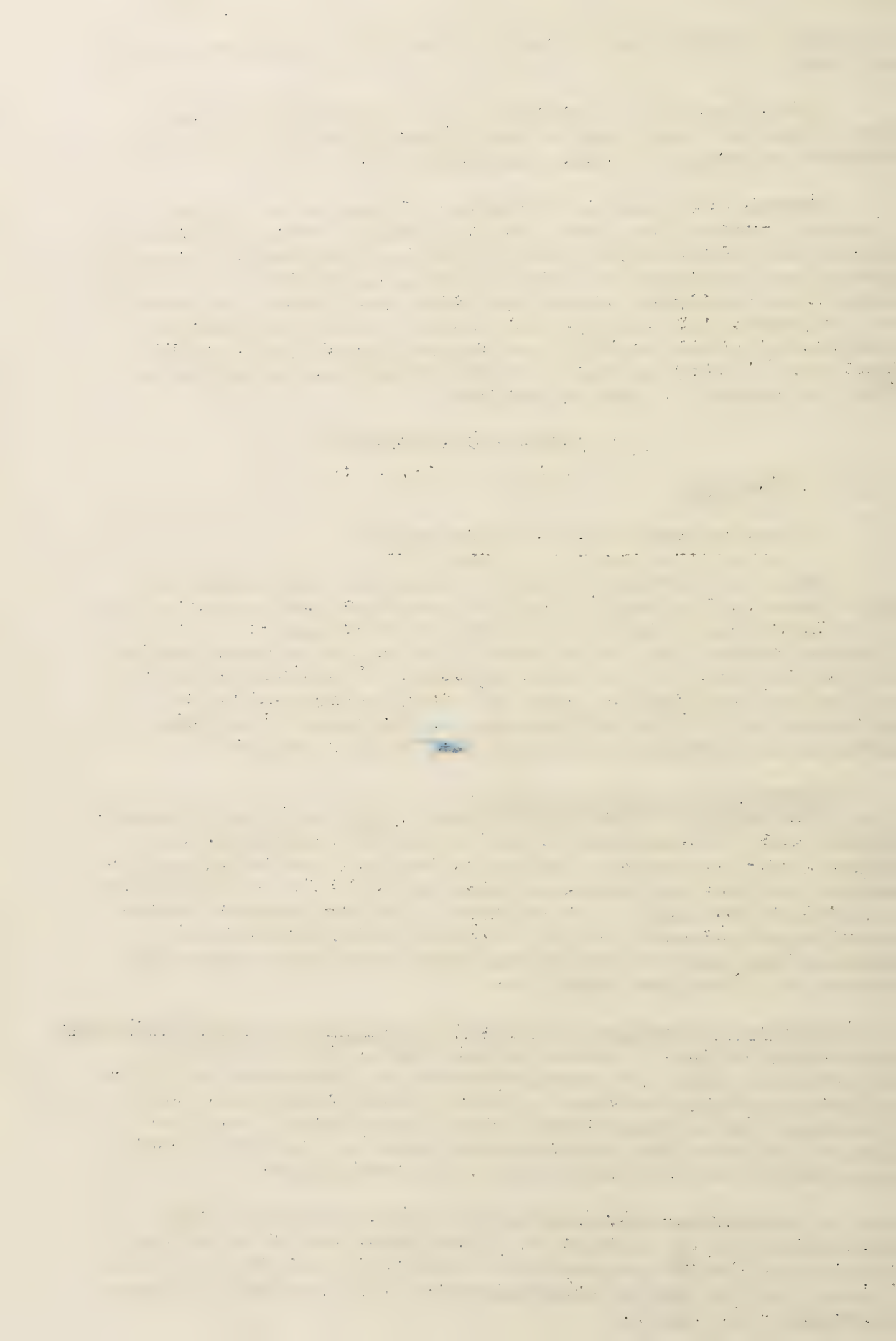
a) méthode à la soude diluée.-

20 g d'un mélange tétralone-tétralol (172) et 14 g d'anisalaldéhyde sont dissous dans 50 cm³ d'alcool éthylique. On ajoute 1 cm³ de soude à 30% et on obtient une solution homogène qui devient verte. Au bout de 10 h. de contact à la température ambiante, les cristaux d'anisylidène-2 tétralone-1 apparaissent (15 g) - F. 112° Cette technique de condensation qui est classique exige plusieurs heures de contact et n'est pas complète.

b) Méthode thermique (170°-180°) en présence de pipéridine-

Cette méthode qui, à notre connaissance, n'a pas encore été employée dans les condensations de cyclanones et d'aldéhydes aromatiques donne d'excellents résultats. Elle a l'avantage de ne plus faire appel à un réactif acide ou alcalin et peut être intéressante dans les condensations des cétones avec les aldéhydes oxy-aromatiques.

20 g de tétralone-tétralol et 14 g d'anisalaldéhyde sont additionnés de 12 gouttes de pipéridine. On porte au bain d'huile à 170-180° pendant 3 à 4 heures; puis on ajoute de l'alcool et on laisse cristalliser. (17,5 g d'anisylidène-tétralone - F. 112°).



c) Méthode à l'éthylate de Na à chaud -

80 g de tétralone-tétralol et 56 g d'anisaldéhyde sont additionnés d'éthylate de Na (1 g de Na dissous dans 30 cm³ d'alcool méthylique). On porte le mélange qui bleuit d'abord puis devient violacé à 60° durant 10 minutes. On laisse revenir à température ambiante et on voit une prise en masse. On essore et on recristallise dans l'alcool (90 g de cristaux) - F. 112°.

Cette méthode d'un usage pratique permet l'obtention rapide avec d'excellents résultats de la plupart des dérivés que nous avons décrits. Elle n'est cependant pas valable pour les oxyaldéhydes aromatiques qui, dans ces conditions, précipitent sous forme de sel de Na⁺ insoluble dans l'alcool et qui, de ce fait, n'entrent plus en réaction. Nous utilisons de préférence la méthode à la soude diluée dans ce cas particulier.

2) Aryl-méthyle-2 tétralone-1.-

Ces dérivés, décrits dans le tableau VI, ^{p. 24} ont été obtenus par réduction catalytique, sur nickel de Raney au sein de l'acétate d'éthyle à la température ordinaire, des aryl-méthylidène-2 tétralone-1 correspondantes. On arrête l'hydrogénation dès qu'une molécule d'H₂ est absorbée, la vitesse de réduction de la double liaison étant beaucoup plus grande que celle du groupement cétonique. On filtre pour séparer le nickel Raney, on concentre à sec l'acétate d'éthyle, on additionne d'alcool et on laisse cristalliser.

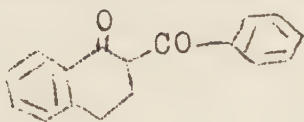
Certains de ces corps ont été obtenus par des méthodes différentes

- le corps 1 ou 2-2' méthylène-bis(tétralone-1) s'obtient par une méthode analogue à celle utilisée pour les Aryl-méthylidène-2-tétralone-1. Nous avons effectué sa synthèse suivant Décombes (55)

2/10° de molécule de tétralone sont additionnées d'1/10° de molécule de formol à 40%. On ajoute quelques cm³ de NaOH à 10%. La réaction devient intensément violette. On laisse 24 h. en contact; on extrait à l'éther; on lave la solution éthérée plusieurs fois à l'eau; on chasse l'éther et on distille sous vide. Les têtes constituées par la tétralone sont séparées, puis la substance cherchée distille à 240° sous 3 mm de Hg. Après recristallisation dans l'alcool, on obtient le point de fusion de 107°. Le corps se sublime sous haute pression en plaquettes jaunes. Spectre U.V. 2 maxima à 250 et 290 mμ.

3) β-dicétones dérivés de la tétralone :

Ces corps ont été décrits dans le tableau VIII. ^{p. 28}

- Benzoyl-2-tétralone-1 ($C_{17}H_{14}O_3$)-

30 g de tétralone- α (1 molécule) sont dissous dans un excès de benzoate d'éthyle (3 molécules). On ajoute en refroidissant et en agitant 14 g d'éthylate anhydre, sec, de Na (préparé en traitant l'alcool éthylique par le sodium et en chassant l'alcool sous vide et à -80°). On laisse reposer 24 h. puis on jette sur de la glace. Quand tout est dissous, on extrait à l'éther pour éliminer l'excès de benzoate d'éthyle et de tétralone. On acidifie ensuite la solution aqueuse par l'acide acétique; une huile apparaît qu'on dissout à froid dans l'alcool. Les cristaux de la dicétone se forment après un séjour en glacière; le rendement est faible - F. 74° -

Analyse : C% calc. 81,6 - tr. 80,9 - H% calc. 5,60-Tr. 5,65

Dans l'espoir d'augmenter les rendements, nous avons effectué la réaction à chaud à 80° au bain d'huile. Les rendements en benzoyl-tétralone sont alors nuls, l'éthylate de Na ayant saponifié le benzoate d'éthyle en acide benzoïque. Notons que la saponification d'un ester par de l'éthylate rigoureusement anhydre est souvent possible.

- Propionyl-tétralone - F. 55°

- Butyryl-tétralone - F. 53°

- Acétyl-tétralone - F. 56°

Ces corps ont été préparés dans les mêmes conditions que précédemment. Dans le cas de l'acétyl-tétralone seulement, nous avons obtenu d'excellents rendements, le corps étant identique à celui obtenu par Meerwein et Vossen (148) à l'aide d'hydrure de Na.

B - NAPHTOQUINONES :

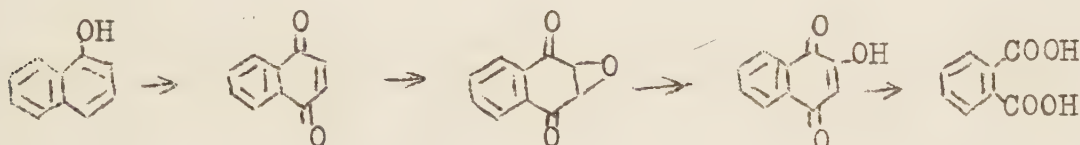
Ces corps sont décrits dans le tableau VII. p 27

- Hydroxy-2 naphtoquinone-1,4 (LX ou lawsone)

Pour effectuer cette synthèse, Fieser a préconisé deux procédés plus ou moins compliqués (69,70). Quant à nous, généralisant aux naphthols une technique d'oxydation qui avait déjà permis à Brecht et Rogers (34) d'obtenir des oxy-quinones en partant d'acide phénolique monocyclique, nous avons traité le β -naphthol à l'eau oxygénée à 30% en milieu alcalin.

Le résultat a été négatif. Par contre, l' α -naphtol traité dans les mêmes conditions, nous a fourni des rendements acceptables en hydroxy-2 naphtoquinone-1,4. Au cours de cette oxydation, il est nécessaire d'éliminer le sel de sodium de l'hydroxy-2 naphtoquinone-1,4 au fur et à mesure de sa formation, car l'action prolongée de l'eau oxygénée peut aboutir à une rupture de cycle avec formation de quantités plus ou moins importantes d'acide phthalique.

Pour cette dégradation oxydative, nous proposons le schéma suivant :



On dissout 40 g de soude dans 80 cm³ d'eau : puis on ajoute 14,84 d' α -naphtol (1/10^e de molécule). On refroidit la solution obtenue et on ajoute goutte à goutte 40 cm³ d'eau oxygénée à 130 volumes. Il apparaît au début un précipité blanc, la température du mélange pouvant atteindre 50°. Quand l'addition d'eau oxygénée est terminée, on continue le chauffage au bain-marie à 50° en agitant continuellement. Le sel de sodium de la lawsone, peu soluble dans la soude, apparaît au bout d'un certain temps sous forme d'un précipité rouge caractéristique qui peut être séparé par centrifugation. On ajoute à la solution surnageante 10 g de soude en pastilles et 10 cm³ d'eau oxygénée. Il se forme alors à 50° et après 12 h. de réaction une nouvelle quantité de sel sodique. On acidifie la solution avec de l'acide sulfurique dilué et on épuise à l'éther. On traite la li-
queur éthérée par le bicarbonate de soude, lequel dissout la lawsone. On sépare alors par acidification le produit. On recueille finalement 6 g de lawsone - F. 188°. Par sublimation, on obtient des cristaux jaunes - F. 194°, identiques en tout point à l'hydroxy-2 naphtoquinone 1-4 préparée selon Fieser.

Corps LXII (C₁₁H₈O₄) F. 232°

Cette méthode de préparation a pu être généralisée à l'obtention de l'hydroxy-2 méthoxy-5 naphtoquinone-1,4; le produit de départ étant l'hydroxy-1 méthoxy-5 naphthalène (24), mais les rendements sont faibles.

Analyse : C% calc. 64,70 - tr. 64,10 - H% calc. 3,95 - Tr. 3,92

- Méthoxy-2 naphtoquinone-1,4 (°)

(°) la méthoxy-2 naphtoquinone-1,4 a été obtenue également par une méthode originale consistant en une oxydation de la néroline soit par le tétracétate de plomb, soit par une oxydation chromique (175).

- corps LVII, LVIII, LIX ou (éthoxy, propoxy, isopropoxy)
naphto-quinone, 1-4
- diphticol

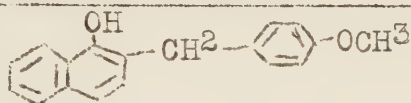
La lawsonie a servi de matière première à l'obtention de diverses quinones étudiées comme prothrombopéniques. Ainsi, en traitant la lawsonie par l'alcool méthylique en présence d'acide sulfurique, suivant Fieser (69,70) on obtient la méthoxy-2 naphtoquinone-1,4; de même, en traitant la lawsonie par l'éthanol, le propanol et l'isopropanol en milieu sulfurique, on aboutit aux corps LVII, LVIII et LIX.

La lawsonie dissoute dans l'eau bouillante et additionnée d'un excès de formol abandonne après quelques minutes d'ébullition des cristaux de diphticol (162).

C - CORPS NAPHTALENIQUES.-

oooooooooooooooooooo

- 1) - Le corps LV ou p-méthoxy-benzyl-2 naphtol-1 ($C_{18}H_{16}O_2$)

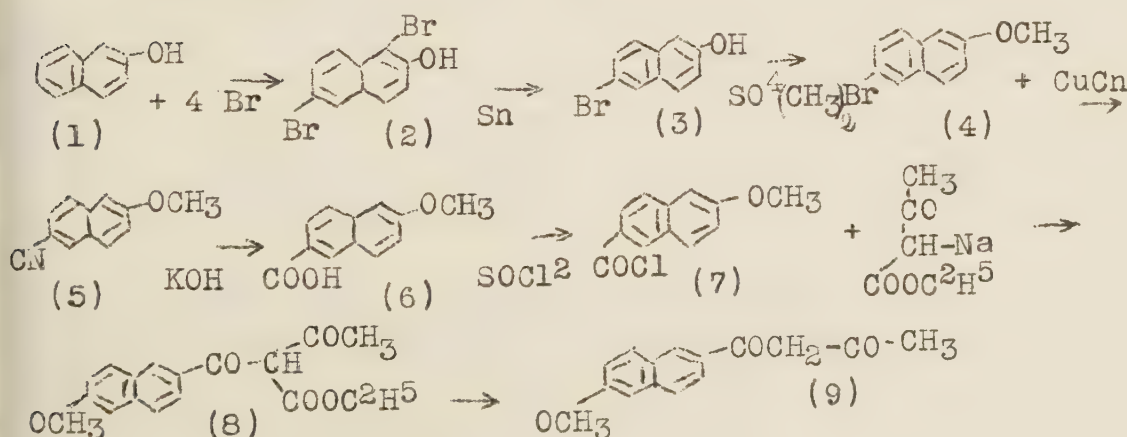


a été obtenu en chauffant à 220° au reflux 1/10^e de molécule de p-méthoxy-benzyl-tétralone-1 avec 1/10^e d'atome de soufre. Quand le dégagement d' H_2S n'est plus perceptible, on ajoute de la soude à 10%. On extrait à l'éther, puis la solution aqueuse est acidifiée. Des cristaux apparaissent qu'on recristallise dans l'eau + alcool. Le rendement est très faible - F. 135° .

Analyse : C% calc. 81,79 - tr. 81,20 - H% calc. 6,10 - tr. 6,25

- 2) LXXIV ou butanone-2,3 oyl)-2 méthoxy 6 naphtalène
($C_{15}H_{14}O_3$)

Ce corps a été obtenu par la suite des réactions :



Synthèse des intermédiaires :

- bromo-6 naphтол-2 (corps 3) - F. 127-129° : est obtenu suivant la technique de Koelsch (126)

- bromo-6 méthoxy-2 naphthalène (corps 4) - F. 105°
est obtenu en traitant le corps précédent dissous dans un excès de soude aqueuse par un excès de sulfate de méthyle ajouté goutte à goutte en refroidissant sous le robinet. Un dérivé solide apparaît, le milieu étant toujours alcalin. On extrait à l'éther au bout d'une heure; on lave la solution étherée avec de la soude diluée puis de l'eau; on sèche, on chasse l'éther et on distille sous vide. Le dérivé cherché cristallise immédiatement. R^t : 21 g à partir du corps 2.

- Cyano-2 méthoxy-6 naphthalène
-(Corps 5) - F. 102° - est obtenu en portant une heure à l'ébullition au bain-métallique sur réfrigérant 1/10° de molécule du corps 4 + 1/10° de molécule de cyanure cuivreux anhydre fraîchement préparé. On rectifie sous vide; une huile passe qui se solidifie et qu'on recristallise dans le mélange benzène-éther de pétrole ou dans l'alcool propylique. - F. 102° identique à celui signalé par Horeau et Jacques (97).

Analyse : N% calc. 5,65 - tr. 5,50.

- acide méthoxy-6 naphtoïque-2 (corps 6) - F. 209° -
s'obtient en saponifiant le nitrile précédent. 10 g de nitrile sont additionnés de 15 g de potasse en pastilles et de quelques cm³ d'eau. On ajoute 150 cm³ d'alcool propylique et on met 48 h. au reflux. On concentre ensuite à sec sous vide, on dissout le résidu dans l'eau, on filtre, on acidifie par HCl; des cristaux du produit apparaissent. On recristallise dans le mélange alcool-eau. Le rendement est quantitatif et il ne se forme pas d'amide.

- chlorure d'acide (corps 7) - F. 120° : est obtenu en traitant l'acide précédent bien desséché (3,5 g) par le chlorure de thionyle en grand excès, une heure à froid puis 2 h. au bain-marie. Quand la solution est devenue limpide et qu'il ne se dégage plus de SO₂ ni HCl, on chasse le chlorure de thionyle en excès. Le chlorure d'acide cristallise, on l'essore et on recristallise dans l'éther de pétrole. (Rendement : 3 g).

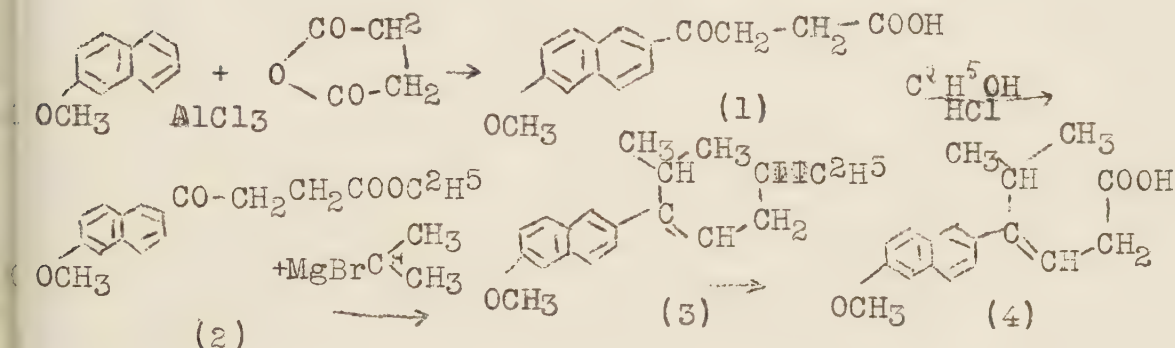
- (butanone 2zoyl)2-méthoxy-6 naphthalène - (corps 9)
F. 80° : est obtenu en traitant au sein de l'alcool absolu 2/10° de molécule d'acétyl-acétate d'éthyle par un léger excès de sodium. On ajoute ensuite 1/10° de molécule de chlorure d'acide - (corps 7); après 6 h. d'ébullition, on chasse l'alcool sous vide, on traite par l'eau, on extrait à l'éther et on acidifie la solution aqueuse par de l'acide acétique. Des cristaux apparaissent qu'on recristallise dans l'alcool aqueux.

Analyse : C% calc. 74,4 - tr. 74,7 - H% calc. 5,83 - tr. 5,60

Au cours de cette condensation qui est la réaction de Claisen, le corps 8 formé comme intermédiaire, chauffé en présence d'un excès d'éthylate, s'est transformé en la dicétone.

3 - LXXVI ou méthyl-5 (méthoxy-6' β -naphtyl)4 hoxène-3oïque
($C_{18}H_{20}O_3$)

Ce corps a été obtenu par la suite de réactions :



Synthèse des intermédiaires :

- β -(méthoxy-2-naphtoyl-6)-acide propionique (corps 1)

F. 135° - a été obtenu suivant la technique de Short, Stromberg et Wiles (247) en traitant la néroline par l'anhydride succinique et le chlorure d'aluminium dans le nitrobenzène en milieu réfrigérant. Cet acide dont la chaîne est disposée en amphipar rapport au méthoxy, est estérifié au sein de l'alcool par l'acide sulfurique concentré. On recristallise dans le méthanol.

- (corps 4) - méthyl-5 (méthoxy-6' β -naphtyl)4 hoxène-3oïque

1/10 $^\circ$ de molécule de corps 2 est dissous dans le benzène et cette solution est ajoutée goutte à goutte au magnésien préparé en traitant au sein de l'éther anhydre 1/10 $^\circ$ d'atome de Mg par 1/10 $^\circ$ de molécule de bromure d'isopropyle; la réaction étant amorcée par un cristal d'iode. On porte 1 h. au reflux, puis on décompose le magnésien par la glace et l'acide sulfurique. On extrait au benzène et la solution est agitée à plusieurs reprises avec une solution de carbonate de soude. La solution aqueuse restante, après acidification, abandonne un peu d'un corps qui, recristallisé dans l'acide acétique, fond à 165° (structure non encore déterminée); il est probable qu'il s'agit du carbénol correspondant à l'acide (corps 4).

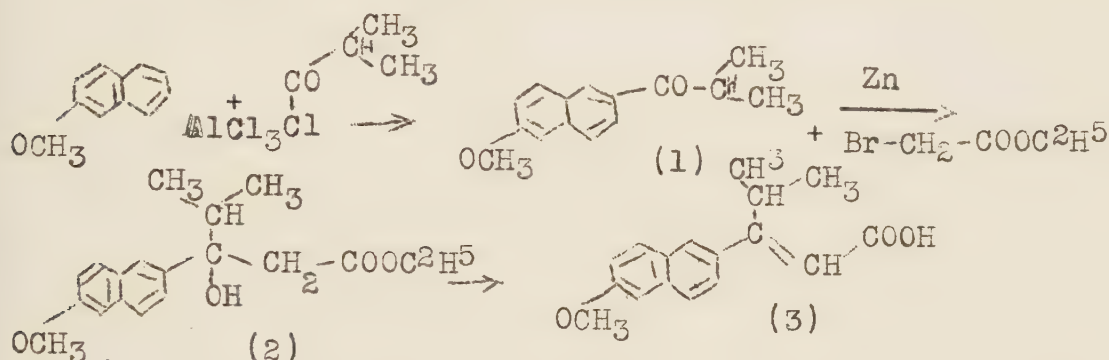
La solution benzénique renferme le corps 3. On concentre à sec et on le saponifie directement, sans l'isoler.

On ajoute à l'estér précédent, concentré à sec, un excès de soude, de l'eau et on homogénéise à l'alcool. Après une heure d'ébullition, on verse sur l'eau, on extrait à l'éther et on acidifie la solution aqueuse par HCl. On recueille des cristaux qu'on recristallise dans le mélange alcool- eau - F. 138° -

Analyse : C % calc. 76,03 - tr.75,92 - H% calc.7,09-tr.6,98

4 - LXXVII ou méthyl 4 (méthoxy-6' β -naphtyl)3-pentène-2 oïque - (C₁₇H₂₀O₄)

Ce corps a été obtenu par la suite de réactions :



Synthèse des intermédiaires :

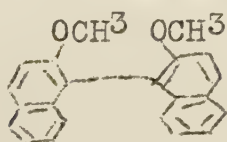
- méthoxy-6 naphtyl-2 isopropyl-cétone (corps 1) F. 57°

On l'obtient en appliquant la technique préconisée par Haworth et Scheldrick (89) pour le propionyl-2 méthoxy-6 naphtalène.

1/10° de molécule de néroline est dissoute dans le nitrobenzène. On ajoute 1/10° de molécule de chlorure de l'acide isobutyrique et, par portions successives, 1/10° de molécule de chlorure d'aluminium, le ballon réactionnel étant maintenu dans un bain de glace. On laisse reposer une nuit sous reflux et on décompose par l'acide chlorhydrique et la glace. On lave la solution nitrobenzéni- que à l'eau et on entraîne à la vapeur. On rectifie la cétone sous vide (Eb.215-220°). Des cristaux apparaissent(°)

(°)- Les queues de distillation (Eb.280-290°) cristallisent. Après recristallisation dans l'acide acétique, les cristaux fondent à 190°; on obtient vraisemblablement le corps sui- vant (C₂₂H₁₈O₂) -

Analyse : C% calc. 84,05 - tr.83,40
H% calc. 5,77 - tr. 5;82



déjà obtenu par Scholl et Soer (240)

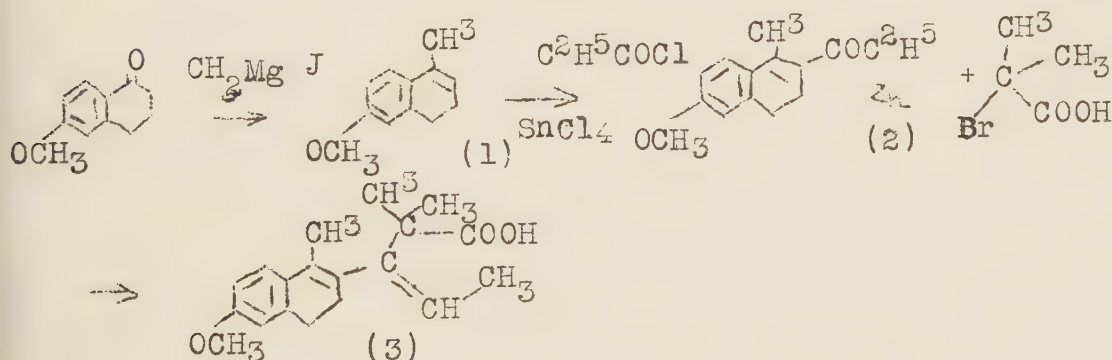
- (corps 3) - F. 162°

Ce corps a été obtenu par la méthode de Réformatsky.

On ajoute 1,5/10ème de molécule de mono-bromacétate d'éthyle goutte à goutte à 1/10° de molécule de la cétone précédente, au sein du benzène anhydre, en présence de zinc (1,5/10° d'atome). Le zinc a été lavé à l'acide chlorhydrique dilué puis à l'eau et desséché sous vide. On amorce la réaction avec un cristal d'iode. Après la première réaction violente, on poursuit l'ébullition de la solution benzénique 5 h. au reflux. Après refroidissement, on verse sur de la glace acidifiée par l'acide sulfurique, on extrait au benzène, on lave celui-ci plusieurs fois à l'eau et on sèche sur chlorure de calcium. On distille le solvant. L'huile restante est soumise à la distillation (Eb. 250-270°) Il s'agit probablement de l'ester (corps 2). Le distillat est additionné d'un excès de soude aqueuse; la solution obtenue est homogénéisée à l'alcool et l'ébullition est poursuivie pendant 1 h. sous reflux. On chasse alors l'alcool, on traite par H₂O, on extrait 2 fois à l'éther et la solution aqueuse est acidifiée par HCl. Des cristaux blancs apparaissent; recristallisés dans l'alcool, ils fondent à 162°.

5 - LXXVIII Diméthyl-2-2(méthyl-1' méthoxy-6' dihydro-3'-4'/3-naphtyl)3 pentène-3 oïque - (C₁₉H₂₄O₃)-

Ce corps a été obtenu par la suite de réactions :



Synthèse des intermédiaires (Voir également (176))

-méthyl-1-dihydro-3,4 méthoxy-6 naphtalène (corps 1)
(C₁₂H₁₂O)

1/5° de molécule d'iodure de méthyle est transformée en iodure de méthyl-magnésien. On ajoute goutte à goutte et en agitant une molécule de méthoxy-6 tétralone-1 en solution benzénique. On chauffe le tout 3 heures au reflux. Après refroidissement, on décompose par de la glace acidifiée par l'acide sulfurique. On extrait à l'éther, on lave à l'eau puis au bicarbonate, on sèche. On chasse le solvant,

puis on déshydrate le résidu par l'acide formique et on distille sous vide ($Eb_{12mm} = 158-160^\circ$).

-méthyl-1 propionyl-2 dihydro-3,4 méthoxy-6 naphthalène
(corps 2) ($C_{15}H_{18}O_2$)

17,4 g du corps 1 (1/10° de molécule) sont mélangés à 9,25 g (1/10° de molécule) de chlorure de propionyle. On verse alors le mélange goutte à goutte dans une solution glacée de 26 g de chlorure stannique dans 60 g de sulfure de carbone, en agitant énergiquement suivant la méthode classique de Darzens (52). On abandonne 24 h. en glacière; un complexe insoluble se sépare dans le liquide rouge. On décompose par un mélange de glace et d'acide chlorhydrique; on extrait à l'éther, on lave, on sèche et on chasse le solvant. On ajoute au résidu un excès de diéthyl-anilino et on chauffe au reflux à 180° pendant 1 heure. Après refroidissement, on reprend par l'acide chlorhydrique dilué. On extrait la cétone formée par l'éther, on lave avec de l'acide chlorhydrique dilué, puis à l'eau; on chasse le solvant puis on fractionne. ($Eb_{20mm} = 220^\circ$)

Analyse : C% calc. 78,2 - tr. 78,35 - H% calc. 7,82 - tr. 7,9

- corps 3 ($C_{19}H_{24}O_3$) - F. 107-108°

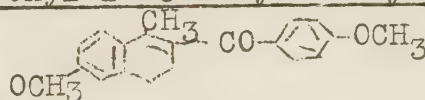
On dissout 16 g de la cétone précédente dans 50 cm³ de benzène anhydre. On ajoute 13 g de zinc soc (décapé à l'acide chlorhydrique), à 1/10° de molécule de bromo-isobutyrate d'éthyle. On chauffe au reflux en maintenant une légère ébullition pendant 3 h. Après refroidissement, on traite par de la glace acidifiée par l'acide sulfurique, on extrait au benzène, on lave à l'eau, on sèche et on chasse le solvant. A la distillation, on a 2 paliers

- a) $Eb_{12mm} = 190-200^\circ$,
- b) $Eb_{12mm} = 250^\circ$

On déshydrate la totalité du distillat à l'acide formique à 90° (2 h. d'ébullition), puis on jette sur l'eau et on extrait au benzène. On évapore le benzène et on saponifie le résidu brut (excès de soude à 10% en présence d'alcool et sous reflux pendant 5 h.) Le précipité dissous dans l'alcool à 60 % cristallise (Rendement : 2 g.).

Analyse : C% calc. 76,0 - tr. 76,15 - H% calc. 8,0 - tr. 8,76

6 - LXXI ou p-méthoxy-benzoyl-2 méthyl-1 méthoxy-6 dihydro-3,4-naphtalène ($C_{20}H_{20}O_3$) - F. 130°

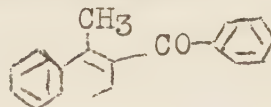


Le dérivé est obtenu en appliquant la technique de Darzens exactement comme nous avons opéré pour le corps 2. Le chlorure de méthyl-1, propionyl-2, dihydro-3,4-méthoxy-naphtalène. Le chlorure de propionyl a été remplacé par le chlorure de l'acide anisique. L'huile obtenue ($Eb_{12mm} = 290^\circ$) a cristallisé après plusieurs mois.

ANalyse : C% calc. 77,90 - tr. 77,26 - H% calc. 6,54 - tr. 6,14

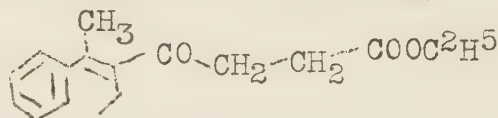
7 - LXXII ou phényl-2 benzoyl-3 pentène-2 ($C_{18}H_{18}O$)
(Eb. 15mm = 210°)

On l'obtient par la même méthode de condensation en présence de chlorure stannique du chlorure de benzoyle et de phényl-4 butylène 3,4



8 - LXXIII ou phényl-6 éthyl-5 heptène-5 one-4 oate d'éthyle-
($C_{17}H_{22}O_3$) (Eb. 12mm = 200°)

On l'obtient en condensant suivant la même technique de Darzens; le phényl-4 butylène-3,4 avec le mono-chlorure de l'ester succinique.



III. - SERIE INDANIQUE

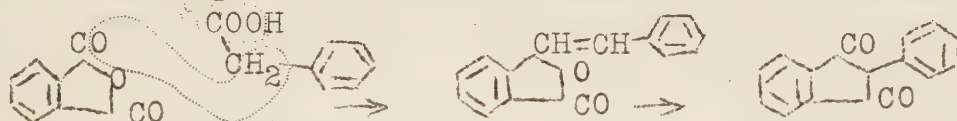
A) ARYL-2 INDANEDIONES 1-3. - Préparations

De nombreuses méthodes sont décrites qui nous permettent d'obtenir des indanediones :

1°) Méthode de Gabriel (79)

Cette réaction s'effectue en 2 temps :

- a) obtention d'un R-méthylidène-phthalide, à la suite d'une condensation thermique entre l'anhydride phthalique et un acide R-acétique en présence d'acétate de Na fondu.



- b) transposition en présence de méthylate de Na du dérivé précédent en une indanedione substituée en 2 (186).

Cette réaction a déjà donné lieu à de nombreuses généralisations.

2°) Méthode de Diokmann (56)

La réaction s'effectue en un temps : il y a condensation entre le benzaldéhyde et le phthalide en présence d'éthylate, cet agent effectuant immédiatement la transposition en phényl-indanodione. Cette méthode, très intéressante, a été assez peu généralisée : seulement à l'aldéhyde anisique (125), et à l'aldéhyde vératrique (73).

3°) Méthode de Nathanson, Gabriel, etc... (186, 79)

Elle consiste en un traitement par la potasse alcoolique

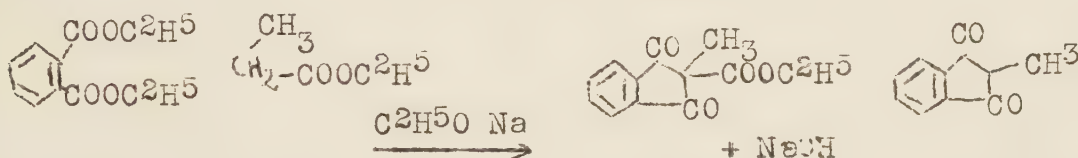
du désoxy-benzoylo-carbonate de méthyle.



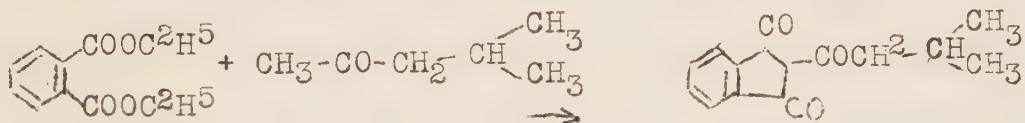
Cependant, cette méthode donne de mauvais rendements et la matière première nécessaire ne peut s'obtenir que par l'une des deux méthodes précédentes.

4°) Méthode de Wislicenus (289)

Elle consiste à faire réagir une molécule de phthalate de diéthyle avec une molécule de propionate d'éthyle par exemple en présence de deux molécules d'éthylate.



Cette méthode n'a pas encore été généralisée aux aryl-indanediones. Cependant, appliquée aux cétones au lieu des esters, elle a permis l'obtention de triones (119).

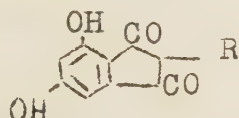
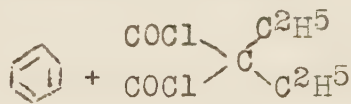


Elle nous a permis l'obtention du corps CXXIX - F. 118°, non encore décrit, que nous avons essayé comme hypoprothrombinémiant.

5°) Méthode de M.Freund et K.Floischer (74)

Elle consiste à condenser le dichlorure de l'acide diéthyl-malonique avec les hydrocarbures aromatiques en présence de chlorure d'aluminium selon Friedel et Craft.

Cette méthode a été généralisée par Black, Shaw et Walker (27) aux dichlorures de l'acide malonique substitués ou non et aux polyphénols et aux β -naphtols.



6°) Méthode de Wojak (295)

Elle consiste à cycliser à l'aide d'acide sulfurique concentré ou oxy-chlorure de phosphore un benzoyl-acétate d'éthyle monosubstitué sur le méthylène actif.

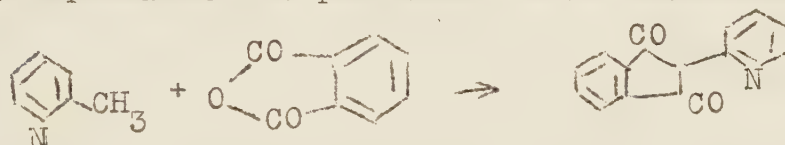


Cette méthode n'a été utilisée qu'avec le substituant $R = \text{CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5$ ou $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NO}_2$. Par ailleurs les rendements de la cyclisation sont faibles.

7°) Méthode de Jacobsen et Reimer (102) -

Elle consiste en une réaction thermique à 200° entre l' α -picoline et l'anhydride phthalique en présence de chlorure de zinc qui donne l' α -pyridyl-2 indanedione-1,3 (aiguilles jaunes F. 287°).

Cette méthode est uniquement valable avec CH_3 fortement activé par un N nucléaire (un essai effectué avec le méthylène-2 naphthalène n'a pas abouti à la dione attendue).

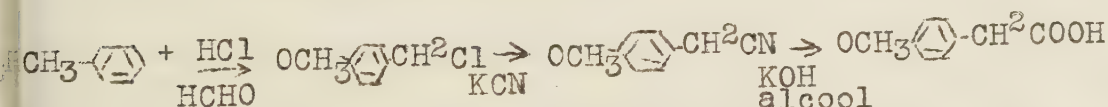


La série des aryl-indanediones dont nous avons besoin a été obtenue à l'aide des deux premières méthodes de synthèse qui, indiscutablement, donnent les meilleurs rendements et pour lesquelles les matières premières sont plus facilement accessibles.

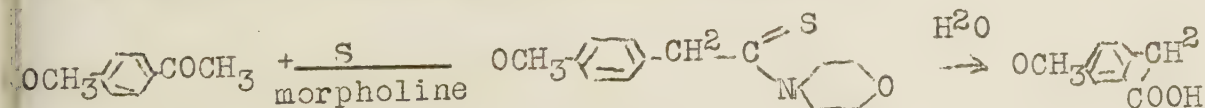
a) Aryl-indanediones obtenues par la méthode de Gabriel (79)

Cette méthode exige comme matière première des acides aryl-acétiques. Nous les avons préparés par deux méthodes différentes :

1) en partant d'un carbure aromatique :



2) en partant d'une cétone aromatique suivant la réaction de Willgerodt, modifiée par Kindler (82) :





Si le premier procédé donne de mauvais rendements dans le cas de l'acide p-méthoxy-phényl-acétique, il est cependant très commode pour l'acide α -naphtyl-acétique ou β -naphtylacétique. Toutes ces matières premières sont décrites; nous n'avons apporté d'amélioration que dans la saponification de l' α -naphtyl-acétonitrile en acide α -naphtyl-acétique. En effet, la saponification effectuée ordinairement par l'acide sulfurique ou par la soude alcoolique aboutit toujours en plus de l'acide α -naphtyl-acétique cherché à de fortes proportions de l'amide correspondante. Pour éviter cet inconvénient, nous avons dissous le nitrile dans l'acide acétique et ajouté Br-H à 48% jusqu'à apparition d'un léger trouble. Ensuite, on a poursuivi l'ébullition au reflux pendant 8 h. On concentre sous vide, on traite par l'eau, puis on ajoute un excès de soude. On extrait l'insaponifiable à l'éther et, après le traitement habituel, on obtient l'acide α -naphtyl-acétique (F.133°).

Par contre, la deuxième méthode d'obtention des acides aryl-acétiques, la réaction de Willgrodt modifiée par Kintler (120) (241), est beaucoup plus avantageuse dans le cas de l'acide p-méthoxy-phényl-acétique et de l'acide p-tolyl-acétique.

Technique de la méthode de Gabriel

La technique générale est décrite pour l' α -naphtyl-indanédione.

3 g d'acide α -naphtyl-acétique sont intimement mélangés à 3 g d'anhydride phtalique. On ajoute 0.1 g d'acétate de Na fondu et on place le tout au bain métallique dans un ballon à col court ouvert. Quand la masse est fondue, on porte la température intérieure du ballon à 240°. La masse en fusion se boursoufle; des gouttes d'eau apparaissent et CO₂ se dégage. On poursuit alors le chauffage en agitant avec une spatule pendant environ 2 h. On laisse refroidir, on reprend par l'eau distillée à l'ébullition pour éliminer l'acétate de Na et l'excès d'acide-naphtyl-acétique et d'anhydride phtalique. On essore et on recristallise dans l'alcool. F.165°. Rendement : 2,88 g. On a ainsi l' α -naphtylidène-phtalide (C₁₉H₁₂O₂)

Analyse : C% calc.83,80- tr.83,65 - H% calc.4,44 -tr.4,31

La transposition en α -naphtyl-indanédione s'opère de la façon suivante :

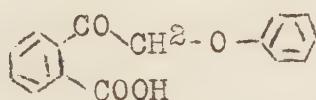
On dissout 1/10° d'atome de Na dans 300 cm³ de méthanol anhydre. On ajoute 1/10° de molécule de l' α -naphtylidène-phtalide sec et on poudre et on porte au reflux. Très rapidement, on obtient une solution rouge orangée limpide; on poursuit l'ébullition 1/2 heure. On concentre le méthanol sous vide, on traite par l'eau, on extrait l'insaponifiable à l'éther. On acidifie la solution alcaline par l'acide sulfurique au 1/10°. Un abondant précipité apparaît que l'on

recristallise dans l'acide acétique bouillant - F. 216°. Le rendement est quantitatif.

Analyse : C% calc. 83,80 - tr. 83,59 - H% calc. 4,44 - tr. 4,28

Les aryl- méthylidènes-phthalides du tableau IX ont été obtenus par la méthode de Gabriel : CXI, CXII, CXIII, CXIV, (avec l'acide phénoxy-acétique) et CXV (avec l'acide p-méthoxy-phényl-oxyacétique).

La transposition au méthylate de Na a été effectuée dans tous les cas. Seul CXV a été totalement décomposé par le traitement. Par contre, à partir de CXIV, on a pu isoler un peu de phénoxy-2 indanedione-1,3. (F. 125°) Ce corps instable se décompose spontanément en l'acide correspondant: acide phénoxy-acétophénone-2 carbonique (F. 110°) (79)



Les aryl²indanediones-1,3 obtenues par cette méthode sont décrites au tableau IX (LXXIX, LCIV, XCVI, CVI, et CVI bis)

b) Aryl-indanediones obtenues par la méthode de Dieckmann (56)

C'est surtout cette méthode que nous avons utilisée pour préparer la majorité des aryl-indanediones décrites dans le tableau IX. Elle est plus intéressante que la méthode de Gabriel parce qu'elle permet l'obtention des diones en une seule opération, et surtout parce qu'elle fait appel comme matières premières aux aldéhydes aromatiques plus facilement accessibles que les acides aryl-acétiques.

Le phthalide nécessaire dans toutes ces condensations a été obtenu par la méthode de Reissert (229) et les aldéhydes aromatiques par les méthodes de Mc Fadyen, Stevens, etc...

La réaction générale est la suivante :

1/10° de molécule de phthalide anhydre pur (purifié par distillation sous vide, ce qui permet d'éliminer les impuretés en particulier le diphtalyle) est mélangée à 1/10° de molécule d'aldéhyde aromatique. On chauffe jusqu'à obtention d'une huile homogène. On ajoute alors une solution alcoolique rigoureusement anhydre contenant 1/10° de molécule de méthylate de Na; on porte 1/2 heure au reflux. La solution se colore rapidement en rouge sang. On concentre l'alcool sous vide, on traite par l'eau; on extrait l'insaponifiable à l'éther, et on acidifie la solution alcaline. Généralement, l'aryl-indanedione précipite; on recristallise dans l'alcool ou l'acide acétique. Les rendements varient entre 15 et 30%.

Nous avons constaté que le méthanol donne de meilleurs rendements que l'éthanol; de plus, il faut éviter un excès de Na qui risque de dégrader rapidement l'indanedione obtenue en la désoxy-benzoïne carbonique correspondante. Ainsi, si 700 mg de phthalide + 700 mg d'anisaldéhyde sont traités par 100 mg de Na, le rendement en dione est de 300 mg (pure). En présence de 200 mg de Na, le rendement n'est plus que de 230 mg. De plus, si la quantité de Na utilisée est inférieure à la quantité théorique, les rendements sont également affaiblis et on récupère de l'aldéhyde anisique qui n'a pas réagi et de l'acide oxy-méthylène carbonique, ainsi que du phthalide. Il se forme également de petites quantités d'acide anisique et d'alcool anisique par une réaction de Cannizzaro.

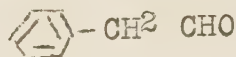
Nous avons essayé de remplacer le Na par d'autres métaux de condensation : le potassium donne des rendements analogues au Na. Par contre, le lithium ne permet pas la réaction.

Nous avons également étudié les possibilités de la réaction de Diöckmann et avons constaté que tous les aldéhydes aromatiques ne sont pas réactifs.

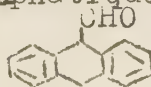
Résultats positifs (tableau IX) : LXXIX (avec le benzaldéhyde), LCIV (avec p-méthyl-benzaldéhyde), XCV (avec p-chloro-benzaldéhyde), XCVI (avec p-méthoxy-benzaldéhyde), XCVII (avec o-méthoxy-benzaldéhyde), XCVIII (avec m-méthoxy-benzaldéhyde), XCIX (avec 3,4-diméthoxy-benzaldéhyde), C (avec 2,4-diméthoxy-benzaldéhyde), CI (avec pipéronal), CII (avec méthyl-2-méthoxy-4 benzaldéhyde), CIII (avec méthoxy-2 bromo-5 benzaldéhyde), CIV (avec triméthoxy-3,4,5-benzaldéhyde), CV (avec thiophène-2 aldéhyde), CVI (avec α -naphtyl-aldéhyde), CVII (avec méthoxy-2 naphtaldéhyde-1), CVIII (avec méthoxy-4 naphtaldéhyde-1).

Résultats négatifs : Les aldéhydes aromatiques suivants n'ont donné naissance à aucune dione : aldéhyde nicotinique, indol-3 aldéhyde, aldéhyde salicylique, aldéhyde hydroxy-4 salicylique, aldéhyde hydroxy-4 méthoxy-3 benzoïque, hydroxy-1 naphtaldéhyde-2, hydroxy-2 naphtaldéhyde-1, aldéhyde méthyl-3 salicylique, nitro-benzaldéhyde (o-m-p), aldéhyde cinnamique, phényl-acétaldéhyde, 9-anthracène-aldéhyde.

Par conséquent, les aldéhydes aliphatiques et les vinylogues des aldéhydes aromatiques (aldéhyde cinnamique) ne réagissent pas et, parmi les aldéhydes aromatiques, beaucoup ne donnent pas la condensation.



- la 9-anthraldéhyde est inefficace, probablement en raison de son comportement comme aldéhyde aliphatique (la forme mésomère suivante est en partie prépondérante).



- La présence d'un éthéro-cycle azoté inhibe totalement la réaction (aldéhyde nicotinique et indol-aldéhyde).

- La présence d'un hydroxyle libre est également rédhibitoire. Tous les hydroxy-aldéhydes essayés n'ont pas réagi. On conçoit facilement ce phénomène, en raison du fait qu'en milieu méthanolique absolu de tels aldéhydes apparaissent immédiatement sous forme de sels de Na insolubles, donc incapables de réagir avec le phtalide. Effectivement, il suffit de masquer l'hydroxyle libre par un groupement méthyle par exemple pour que la réaction ait lieu à nouveau. (o-méthoxy-benzaldéhyde par exemple).

- Les groupements NO_2 empêchent complètement la réaction (cas des nitrobenzaldéhydes). En effet, si l'on considère que cette condensation de Dieckmann est en fait une réaction de Claisen entre un méthylène actif et un groupement CHO , les groupements NO_2 sont fortement inhibiteurs (113).

Nous avons également cherché à généraliser la condensation de Dieckmann à d'autres phtalides par exemple le nitro-6 phtalide, préparé suivant Hoenig (94), l'éthoxy-6 phtalide, préparé suivant Fritsch (75); mais aucun de ces deux dérivés n'a été réactif vis-à-vis des aldéhydes dans les conditions indiquées. Cependant, le nitro-6 phtalide, chauffé avec de nombreux aldéhydes aromatiques en présence de pipéridine à 200° , suivant la technique de Borsche (30) est capable de donner naissance aux arylidène-nitrophtalides correspondants. Mais une telle méthode n'est valable que pour les nitro-phtalides car le phtalide ordinaire aussi bien que l'éthoxy-6 phtalide n'ont pas donné naissance aux arylidène-phtalides recherchés.

- CXVII : (F.227°)

5,6 g de nitro-6-phtalide + 2,4 g de thiophène aldéhyde + 3 gouttes de pipéridine sont chauffés 1 h. à 200° . Après refroidissement, on ajoute de l'acide acétique, on porte à l'ébullition, on filtre. En refroidissant, des cristaux apparaissent.

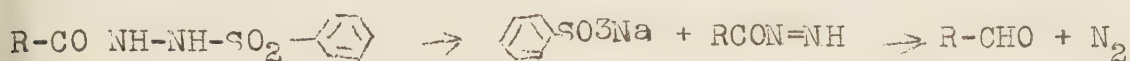
D'après ces données, nous pouvons constater que la condensation de Dieckmann outre qu'elle donne des rendements plus faibles que la méthode de Gabriel présente un caractère de généralité moins étendu. On sait en effet que cette dernière permet l'accès aux diones non seulement avec les acides aryl-acétiques, mais également avec les acides acétiques aliphatiques. De plus, les groupements NO_2 ne sont pas nuisibles, Leupold (137) a pu faire réagir l'acide nitro-phényl-acétique avec l'anhydride phtalique, et l'anhydride-4 nitrophtalique avec l'acide phényl-acétique. Par ailleurs, les groupements sur le noyau d'anhydride phtalique n'empêchent pas la réaction (192).

Cependant, les aryl-indanediones obtenues par la condensation de Dieckmann sont rigoureusement identiques à celles obtenues par la méthode de Gabriel, ce qui constitue une preuve de structure. C'est ce que nous avons vérifié avec la phényl-indanedione (LXXIX), l' α -naphthyl-indanedione (CVI), la p-méthoxy-phényl-indanedione (XCVI) et la p-tolyl-indanedione (LCIV) que nous avons obtenues par les deux méthodes.

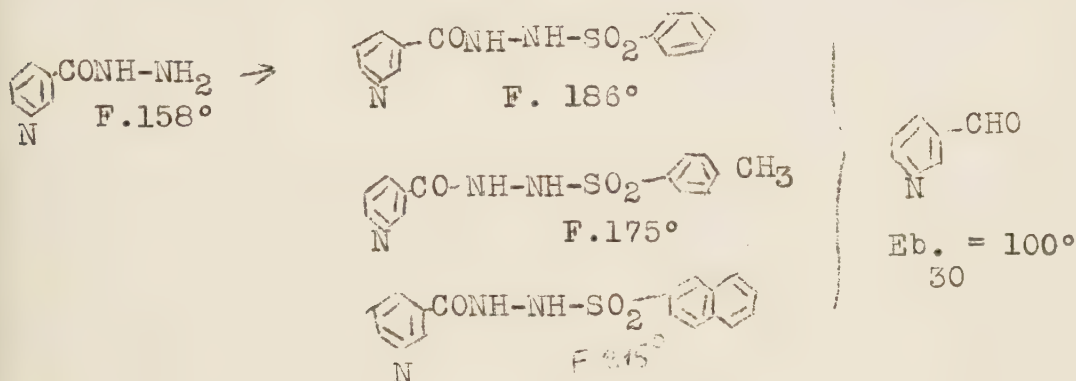
Les caractéristiques de toutes les aryl-indanediones préparées par ces méthodes se trouvent réunies dans le tableau IX.

Dégradation des aryl-indanediones

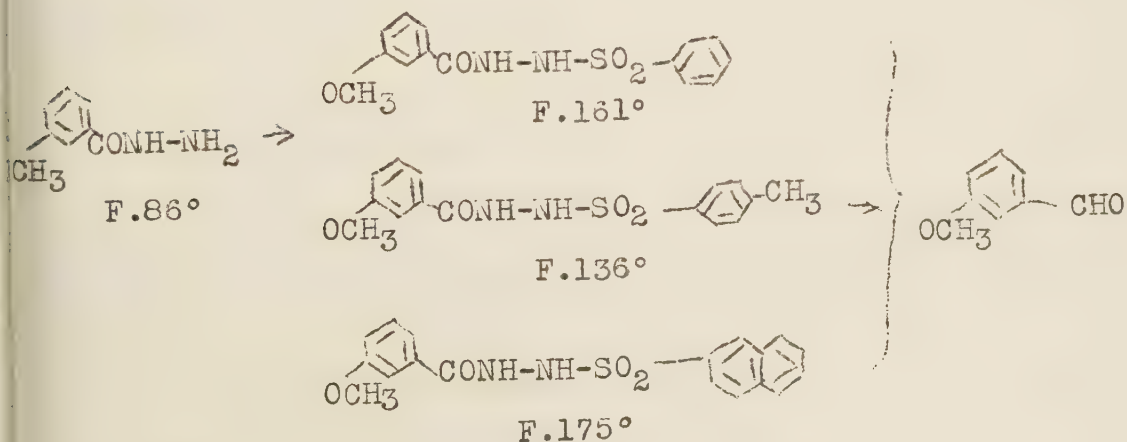
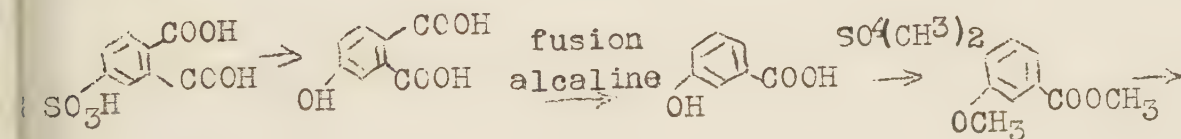
au sein de la pyridine, puis à effectuer la coupure du dérivé obtenu au sein du glycol par le carbonate de Na.



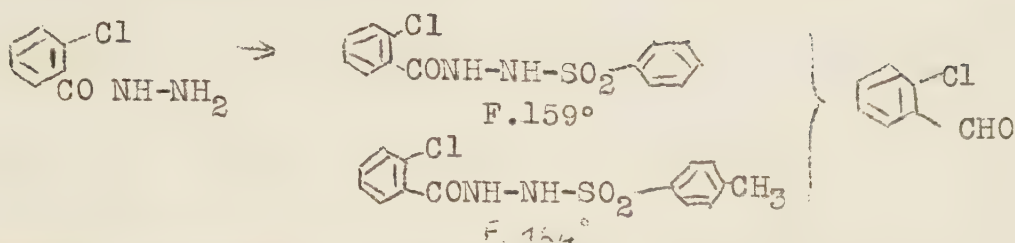
C'est ainsi que le nicotinaldéhyde (obtenu par Niemann, 189), nous a donné les dérivés suivants :



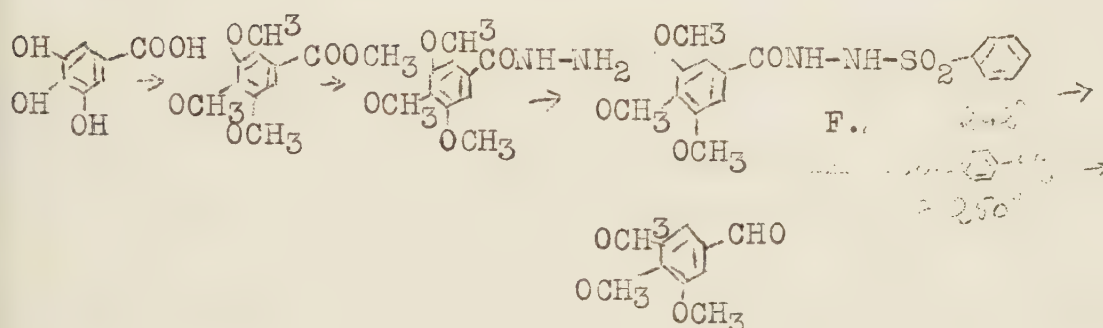
- Aldéhyde m-méthoxy-benzoïque, obtenu par les réactions suivantes :



- Aldéhyde o-chloro-benzoïque :

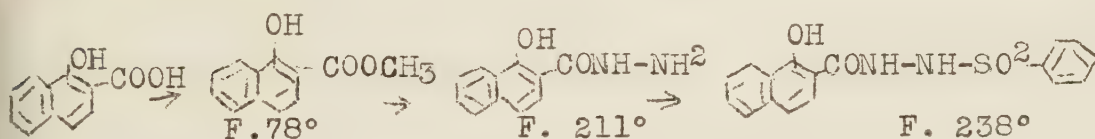


- Aldéhyde triméthoxy-3,4,5-benzoïque, déjà obtenu par Buchanan. (36)



- hydroxy-1 naphtaldéhyde-2 :

Le dérivé benzène sulfonylo-hydrazide correspondant n'a pu être coupé en l'aldéhyde attendu.



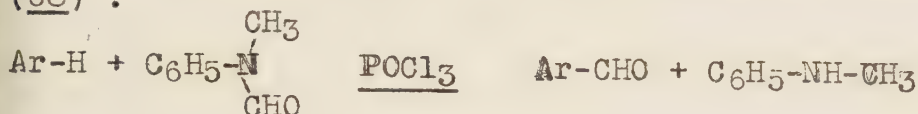
2) Méthode d'Adams (1; 2)

Elle consiste à traiter un éther phénolique ou un phénol par le cyanure de Zn et l'acide chlorhydrique sec en présence ou non de chlorure d'aluminium. C'est ainsi que nous avons obtenu :

- l'aldéhyde résorcylique (F. 68°)
- l'hydroxy-2 naphtaldéhyde (F. 81°)
- Diméthoxy-2,4 benzaldéhyde (F. 68°)
- Méthyl-2 méthoxy-4 benzaldéhyde (F. 110°)
- Méthoxy-2 naphtaldéhyde-1 (F. 84°)

3) Méthode à la N-formyl-N-méthyl-anilino (271)

On traite le carbure aromatique mélangé à la méthylanilino formylée par le trichlorure de phosphore à reflux (68) .



On a obtenu par cette méthode :

- l'aldéhyde-2 thiophénique, l'aldéhyde anthracénique, le méthoxy-4 naphtalaldéhyde-1 et le propoxy-4 naphtalaldéhyde-1.

L' α -naphtalaldéhyde a été obtenu par la réaction de Sommolet (253) sur le chloro-méthyl-1 naphtalène et le bromo-3 méthoxy-2 benzaldéhyde a été obtenu en traitant le méthoxy-2 benzaldéhyde par Br₂ au sein de l'acide acétique.

Caractérisation des aldéhydes aromatiques obtenus :

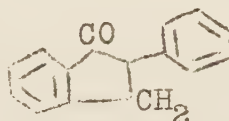
Tous les aldéhydes aromatiques (sans hydroxyle libre) ont été facilement caractérisés par oxydation en acides correspondants à l'aide de l'eau oxygénée en milieu alcalin.

100 mg d'aldéhyde sont mis en présence de 4 cm³ d'H₂O contenant 2 pastilles de potasse; on ajoute 2 cm³ d'eau oxygénée à 30 volumes, goutte à goutte et on porte au B.M. La solution claire obtenue, acidifiée par HCl, abandonne l'acide cristallisé. Nous avons pu vérifier que nous nous trouvons bien en présence des aldéhydes cherchés.

B) INDANONES · préparation -

.....

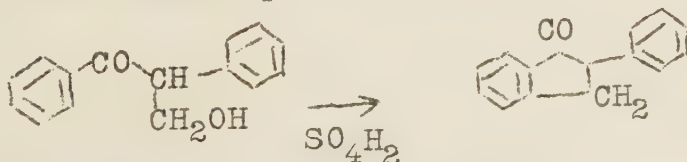
LXXX ou phényl-2 indanone-1 (F.75°)



1°) Généralisation de la méthode de Fuson, Ross et Mc Keever (77) - Voir également Colonge et Weinstein (48bis)

Cette méthode consiste à traiter une cétone aromatique

Ar-CO-CH₂-R par le trioxy-méthylène en présence de carbonate de potassium et à cycliser ensuite le carbinol cétonique obtenu par l'acide sulfurique concentré.



La technique générale utilisée est la suivante :

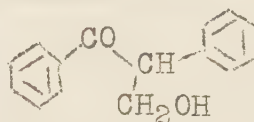
1/10° de molécule de cétone aromatique dissoute dans 100 cm³

de méthanol est additionnée de 3 g de trioxyméthylène et de 1 g de carbonate de potassium. On bouche le flacon et on agite à la machine durant une semaine à la température ordinaire. On concentre le méthanol sous vide, on traite par l'eau, on acidifie avec HCl. On extrait à l'éther, on lave à l'eau, on chasse et on distille. Nous avons ainsi obtenu les corps suivants :

a) méthylol-m-désoxy-benzoïne ($C_{15}H_{14}O_2$) $Eb_{18mm} 202-205^\circ$

Analyse : C% calc. 79,62, tr. 79,21

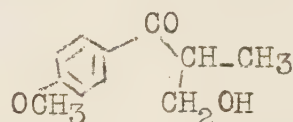
H% calc. 6,24, tr. 6,18



b) méthylol-2 p-méthoxy-phényl-3, propanone-3 ($C_{11}H_{14}O_3$)
 $Eb_{20mm} = 185^\circ$

Analyse : C% calc. 68,02, tr. 67,90

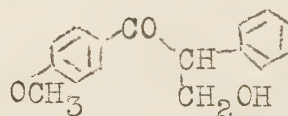
H% calc. 7,27 ; tr. 7,08



c) p-méthoxy-phényl-1 phényl-2 propanol-3 one-1 - ($C_{16}H_{16}O_3$)
 $Eb_{20mm} = 235^\circ$

Analyse : C% calc. 74,98, tr. 74,69

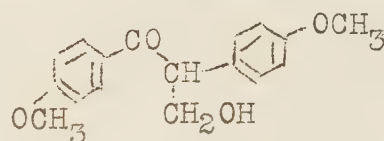
H% calc. 6,29, tr. 6,22



d) Di-p-méthoxy-phényl-1,2 propanol-3 one-1 - ($C_{17}H_{18}O_4$)
 $Eb_{15mm} = 252^\circ$

Analyse : C% calc. 71,31, tr. 71,20

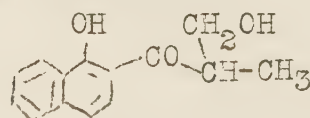
H% calc. 6,34, tr. 6,38



e) hydroxy-1(méthyl-2,2 propanol-2,3-one-2,1)2 naphthalène
($C_{14}H_{14}O_3$) $Eb_{15mm} = 230^\circ - 232^\circ$ F. 92°

Analyse : C% calc. 73,0, tr. 72,71

H% calc. 6,1, tr. 6,30



La cyclisation des méthylols s'effectue au sein de l'acide sulfurique concentré, à 50° pendant 5 minutes. Après traitement par la glace et l'eau, les cristaux des indanones apparaissent.

C'est ainsi que le corps a) donne la phényl-2 indanone-1

Le corps b) donne la méthyl-2méthoxy-5 indanone-1 (F. 68°)

(°) - La preuve de la structure de cette indanone a été obtenue par oxydation en acide méthoxy-4 phthalique à l'aide de l'acide nitrique dilué au 1/2 pendant 1 h. à l'ébullition. Les cristaux obtenus n'abaissent pas le point de fusion d'un échantillon authentique d'acide méthoxy-4 phthalique.

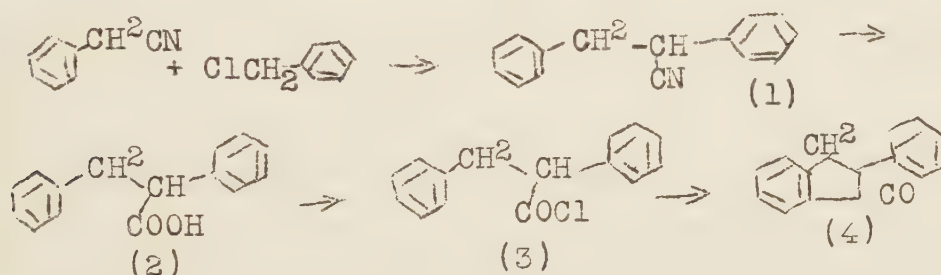
Analyse : C% calc. 75,0 tr. 75,15

H% calc. 6,81 tr. 6,64

Les corps c) et d) traités dans les mêmes conditions par l'acide sulfurique, même à froid, ne se laissent pas cycliser, la présence des groupements $-O-CH_3$ augmente la possibilité de sulfonation sur les noyaux.

2°) Méthode classique d'obtention des Indanones -

Nous l'avons appliqué à la préparation de la phényl-2 indanone-1 dans le but de prouver la structure du corps préparé suivant la méthode précédente.



Synthèse des intermédiaires :

1 - 1/10° de molécule de cyanure de benzyle est dissous dans le toluène. On ajoute 1/10° de molécule d'amidure de Na anhydre. On chauffe au bain-marie jusqu'à la fin du dégagement de l'ammoniac. On jette sur l'eau, on lave, on chasse le solvant, et on distille.

Le phényl-1 benzyl-1 acétonitrile cristallise (F.58°) (obtenu de façon différente par Janson (105))

2 - La saponification est effectuée avec de bons rendements par BrH en milieu acétique, après 12 h. d'ébullition. On chasse sous vide l'excès de BrH, on jette sur la glace, on extrait à l'éther. On agite avec une solution de soude à 10% et on précipite la liqueur alcaline par l'acide chlorhydrique.

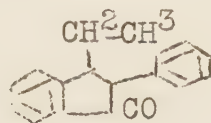
L'acide phényl-1 benzyl-2 acétique (F.95°) est ainsi obtenu avec de bons rendements.

3 - L'acide précédent est traité par deux fois son poids de $SOCl_2$. On chauffe 1/2 h. à 60° et on distille $Eb_{15mm} = 180^\circ$

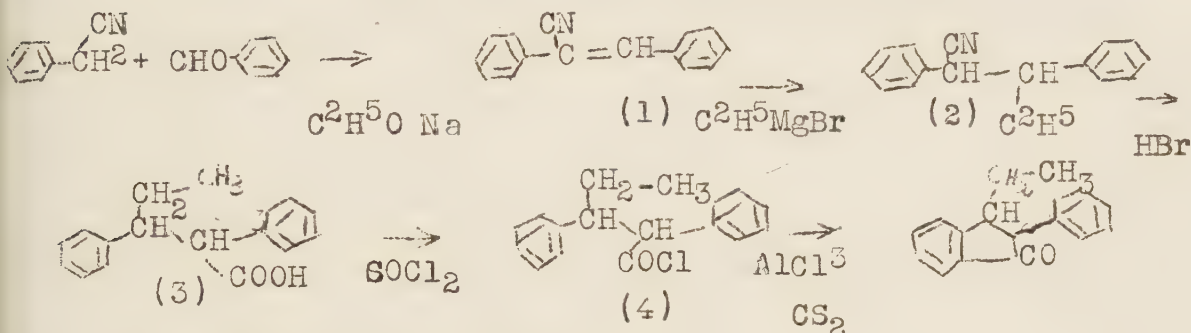
4 - La transformation du chlorure d'acide en phényl-2 indanone est effectuée selon Blum-Bergmann (29), par le chlorure d'aluminium dans le sulfure de carbone.

Ce corps se révèle identique à celui préparé par la méthode de Fuson.

LXXXI ou phényl-2 éthyl-3 indanono-1 -
(C₁₇H₁₆O) Eb₂₀ = 218-220°



Elle est obtenue par la suite des réactions :



Synthèses des intermédiaires :

1 - Le benzal cyanure de benzyle, déjà connu, s'obtient très facilement en traitant 1/10° de molécule de benzaldéhyde, mélangé à 1/10° de molécule de cyanure de benzyle par un excès d'éthylate, en solution alcoolique, durant 10 minutes à l'ébullition. Le produit cherché précipite au refroidissement (F. 86°).

2 - L' α - β -diphényl butyronitrile s'obtient par une réaction de Grignard effectuée avec C₂H₅-MgBr sur le nitrile (1) conformément à la réaction de Kohler (127).

3 - L'acide α - β -diphényl valérienique est obtenu par l'hydrolyse du nitrile (2). Celle-ci est connue comme étant difficile et Kohler est obligé d'opérer sous pression. Nous l'avons réussie à pression ordinaire au sein de l'acide acétique et de BrH, en maintenant pendant 8 h. à l'ébullition. (F. 178°). Notons que Kohler signale un isomère de cet acide (F. 152°) que nous n'avons jamais rencontré.

4 - Le chlorure de l'acide α - β -diphényl valérienique est obtenu par traitement 1 h. au reflux de l'acide (3), par un excès de SOCl₂ (F. 94°).

5 - Obtention de la phényl-2 éthyl-3 indanone :

1/10° de molécule du chlorure d'acide (4) est dissous dans 50 cm³ de sulfure de carbone. On ajoute 1/10° de molécule de chlorure d'aluminium. On porte au reflux pendant 1/2 heure. Après traitement par de la glace acidifiée par l'acide chlorhydrique, on obtient une huile. On reprend à l'éther, on lave, on sèche et on distille. Eb₂₀ = 218-220°.

Analyse : C% calc. 86,4 tr. 86,55

H% calc. 6,78 tr. 6,60

C-INDENONES - préparation

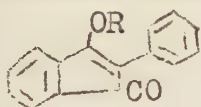
LXXXII ou phényl-2 éthyl-3 indène-2 one-1 (C₁₇H₁₄O) F. 97°

Elle est obtenue par les réactions suivantes : action de C₂H₅ - Mg Br sur la phényl-2 indanedione 1,3, selon la technique de Frank (73)

CXX ou méthyl-3 p-méthoxy-phényl-2 indénone-1

s'obtient également par l'action de CH₃ - MgI sur la p-méthoxy phényl-2 indanedione 1-3 (73).

CXVIII et CXIX ou phényl-2(alcoyl ou aroyl) oxy-3 indène-2 one-1



La phényl-2 indane dione-1,3 est traitée par un excès d'agent acylant au sein du benzène au bain-marie bouillant pendant 1 h. Après traitement par l'eau, on extrait la solution benzénique, deux fois par une solution de soude à 5%. Quand la soude est incolore, on lave à l'eau, on sèche le benzène et on le chasse. Des cristaux apparaissent, on recristallise dans l'alcool.

On a :

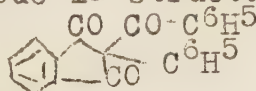
R=COCH₃ ————— LXXXIII (C₁₇H₁₂O₃) F. 110°

R=COC₂H₅ ————— LXXXIV (C₁₈H₁₄O₃) F. 73°

R=COC₆H₅ ————— LXXXV (C₂₂H₁₄O₃) F. 173°

R=CO--OCH₃ — LXXXVI (C₂₃H₁₆O₄) F. 128°

Le dérivé benzoylé avait été déjà cité par Braun (33), mais il lui avait attribué la structure suivante :



Hantzsch (88) a pu prouver par une étude spectrale que le dérivé de Braun était en fait le benzoyl oxy-3 oxo-2 phényl indène.

D) CORPS OUVERTS à CYCLES POTENTIELS : préparation

LXXXVIII ou acide α - β -di phényl valérianique

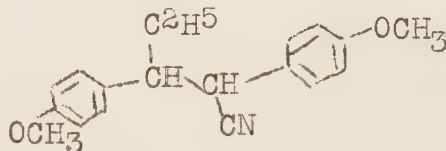
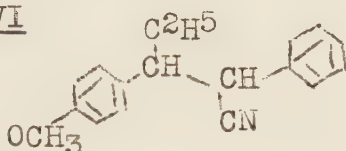
a déjà été mentionné au cours de la préparation de la phényl-2 indanone-1 -

LXXXVII ou acide α - phényl cinnamique

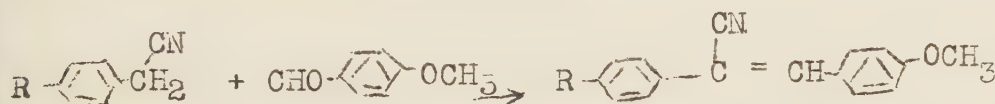
a été obtenu par saponification par la potasse alcoolique selon Ogliabero (191) (F.168°)

LXXXIX déjà mentionné au cours de la préparation de la phényl-2 indanone-1.

CXXII et CXXVI

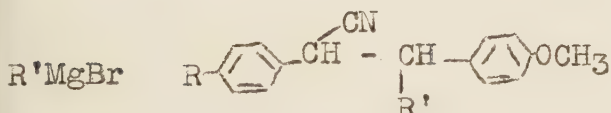


Ces corps ont été obtenus par la suite des réactions signalées pour l'obtention de LXXX.



pour R = H F. 93° (105)

R = OCH₃ F. 106° (106)



CXXII R=H R'=C₂H₅ F. 117° (C₁₈H₁₉O N)

CXXVI R=OCH₃ R'=C₂H₅ F. 130° (C₁₉H₂₁O₂N)

Analyse : C% calc. 77,7 Tr. 76,6

H% calc. 7,17 Tr. 6,84

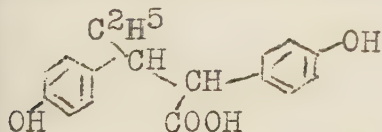
CXXV R=OCH₃ R'=C₃H₇ F. 200° (C₂₀H₂₃O₂N)

Analyse : C% calc. 77,64 Tr. 77,14

H% calc. 7,49 Tr. 7,20

Nous avons effectué l'hydrolyse de ces nitriles par l'acide bromhydrique, mais nous avons eu en même temps des déméthoxylations.

C'est ainsi que CXXVI nous a donné CXXIII ac.di(p-hydroxy-phényl) α - β -valérianique

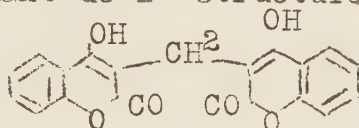


F.244°

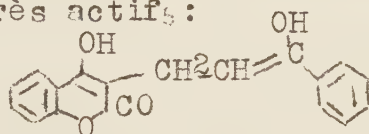
et l'amide correspondante CXXIV insoluble dans le bicarbonate de Na, mais soluble (F.278°) dans la soude.

CONCLUSIONS GENERALES

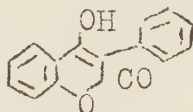
L'étude des relations entre la structure chimique et l'activité pharmacologique a été effectuée dans le domaine des hypoprothrombinémiants. Nous ne reparlerons pas ici de toutes les structures tant hétérocycliques que naphthaléniques qui se sont avérées dépourvues d'activité; mais nous retiendrons que partant de la structure du dicoumarol :



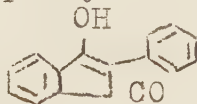
par simplifications successives, en passant par des corps à cycle potentiel, très actifs :



puis simplement asymétriques, tels que la phényl-3 hydroxy-4 coumarine, moyennement active :



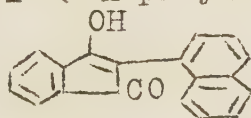
nous avons abouti à la phényl-indanedione :



qui, chez l'homme, est aussi active que le dicoumarol. Ce produit dérive de la phényl-3 hydroxy-4 coumarine par suppression du groupement (-O) dans la structure lactonique.

Les modifications structurales effectuées sur le PID ont permis de préciser que l'activité hypoprothrombinémiante était liée essentiellement à la faculté d'énolisation du groupement dicétonique;

Le P.I.D., considéré comme tête de série, a rendu possible la synthèse de nombreuses autres aryl-indanediones nouvelles et toutes aussi actives; la plus active, comparativement chez le rat, s'étant révélée être celle dont l'encombrement spatial se rapprochait le plus du dicoumarol, à savoir l' α -naphthyl-indanedione :



Nous avons parallèlement effectué une étude entre la structure chimique et l'activité pharmacologique, relativement à la faible action œstrogène que nous avons

décélée chez plusieurs agents prothrombopéniques précédemment étudiés. Il nous a été ensuite possible de dissocier les deux activités hypoprothrombinémiante et oestrogène et nous avons ainsi obtenu des dérivés uniquement hémorragi- ou uniquement oestrogènes.

para

Ce travail structural, tendant à différencier les groupements chimiques indispensables à l'activité de même que l'encombrement spatial nécessaire, une fois achevé, encore fallait-il déterminer si, parmi toutes les structures étudiées à l'image du dicoumarol, une des plus simples, celle du P.I.D. possédait également le même mécanisme d'action sur la coagulation, ou bien si ces analogies structurales étaient seulement des vues de l'esprit ?

C'est pourquoi, nous avons étudié chacun des facteurs intervenant dans la coagulation et l'influence du P.I.D. sur chacun d'eux. En fonction de cette étude biologique, nous pouvons dire que le P.I.D. agit comme le dicoumarol; il abaisse in vivo sensiblement la prothrombine et également le facteur VII; il ne diminue que faiblement, et seulement à fortes doses, le facteur V; il réduit la concentration en facteur sérique Spea, comme dans le cas du dicoumarol, et enfin, il diminue l'antithrombine plasmatique. Dans un tout récent travail, Seegers (243bis) vient de constater, et ceci confirme nos résultats, que le dicoumarol s'attaquait à une nouvelle antithrombine plasmatique progressive.

Nous avons aussi étudié l'influence du P.I.D. sur les facteurs de la coagulation in vitro pour essayer de déterminer si son mode d'action n'était pas également comparable à celui de l'héparine.

L'étude effectuée sur la conservation des plasmas en présence de P.I.D. a montré que si ce dérivé n'avait pas d'action anticoagulante immédiate ni d'action antithrombine, il était cependant capable d'accélérer la déperdition des facultés de coagulation des plasmas par destruction du facteur labile et aussi d'accélérer la destruction de la thrombine. Ces effets de facteurs in vitro en présence de P.I.D. relèvent très probablement d'un phénomène oxydatif puisque l'acide ascorbique les prévient; une étude comparative effectuée avec la plupart des dérivés synthétisés par nous-mêmes a montré que les substances les plus actives in vivo étaient celles qui influençaient au maximum la conservation d'un plasma.

L'étude in vitro entreprise avec le P.I.D. a incidemment permis de mettre en relief l'apparition d'une antithrombine immédiate nouvelle, au cours de la conservation des plasmas à 37°, antithrombine différente des antithrombines progressives normales et de l'antithrombine immédiate qu'est l'héparine. Le P.I.D., in vitro, semble freiner l'apparition de cette nouvelle antithrombine.

En fonction de toutes ces données, le P.I.D. qui présente avec le dicoumarol une relation structurale dans la seule existence d'un groupement énolisable commun a cependant le même mécanisme d'action que le dicoumarol non seulement vis-à-vis de la prothrombine, mais encore vis-à-vis des autres facteurs de la coagulation. De plus, il présente un antagonisme, comme le dicoumarol, avec la vitamine K₁ (26).

Il a des propriétés oestrogènes analogues et il agit sur les capillaires de façon comparable (84, 116). Ces deux dérivés, à première vue dissemblables, ont donc un mode d'action identique.

Au point de vue synthétique, de nombreuses substances appartenant à des classes chimiques variées ont dû être réalisées et nous avons fait appel à un arsenal de méthodes chimiques variées et partant, disparates.

Cependant, ayant eu l'occasion, pendant ce travail, de réaliser, en collaboration avec C. Montzer et P. Vercier, une nouvelle méthode de synthèse de chromones, il nous a paru bon d'envisager une interprétation relative à la synthèse des hétérocycles en général, interprétation qui tendrait à concevoir que, dans les nombreuses méthodes chimiques mises en oeuvre, se rencontre une grande unité.

Enfin, nous décrivons une nouvelle méthode d'obtention des hydroxy-naphtoquinones et nous signalons une nouvelle méthode d'oxydation quantitative des aldéhydes aromatiques en acides correspondants, méthode également capable d'opérer la dégradation des aryl-indanodiones en acides phthali-ques et acides aryloliques correspondants.

Nous espérons que ce travail, forcément incomplet parce que trop vaste, puisqu'il nous a obligés à approfondir des domaines très variés, aura au moins l'avantage de mettre en lumière le fait que des notions d'analogie structurales, purement spéculatives, peuvent cependant aboutir à la synthèse d'agents pharmacologiques précieux en thérapeutique.

B I B L I O G R A P H I E

A

- (1) - Adams R. et Lévine L. - J.Am.Chem.Soc. 45, 2373 (1923)
- (2) - Adams R. et Montgomery E. - J.Am.Chem.Soc. 46, 1518 (1924)
- (3) - Ahmed S. et Desai R. - Proc. Indian Ac. Sc 5A, 277 (1937)
- (4) - Alexander B. de Vries A. Goldstein R. et Landwehr G.
Science 109, 545 (1949)
- (5) - Alexander B de Vries A. et Goldstein R. - Blood 4 n°6,
739 (1949)
- (6) - Alexander B, de Vries A. et Goldstein R. - New England
J. of Medecine 240, 403 (1949)
- (7) - Alexander B. et Landwehr G. - Am. J. Physiol. 159, 322
(1949)
- (8) - Almquist H. et Klose A. - J. Am. Chem. Soc. 61, 1611 (1939)
- (9) - Anschütz R. - Ber. 36, 465 (1903)
- (10) - Anschütz R. - Ann. 367, 169 (1909)
- (11) - Arthus et Pagès - Arch. physiol. norm. et pathol. 2, 739
(1890)
- (12) - Astrup T. et Darling S. - Acta physiol. Scand. 4, 293 (1942)
- (13) - Auwers K. v. - Ann. 421, 52 (1920)

B

- (14) - Baddar F. et Gindy M. - J. Chem. Soc. London, 1951, 64
- (15) - Badin J. Mentzer Ch. Moraux J. et Meunier P. - C. R. Soc.
Biol. 144, 871 (1950)
- (16) - Baker W. et Robinson R. - J. Chem. Soc. London 127, 2354
(1925)
- (17) - Baker W. et Eastwood F. - J. Chem. Soc. London, 1929, 2900
- (18) - Bargellini G. - Gazzetta 55, 945 (1925)
- (19) - Bauer - Acta Med. Scand. 107, 136 (1941)
- (20) - Baumgarten P. et Kargel W. - Ber. 60, 832 (1927)
- (21) - Bayerle H. et Marx R. - Bio chem. Z. 319, 18 (1949)
- (22) - Beckh W. - Ber. 31, 3161 (1898)
- (23) - Beertescher E. Jr et Shive W. - J. B. C. 164, 53 (1946)
- (24) - Bentley W., Robinson R. et Weizmann Ch. - J. Chem. Soc. Lon-
don 91, 107 (1907)
- (25) - Bischoff C. et Siebert H. - A. 239, 92 (1887)
- (26) - Bjerkelund - Scand. J. Clin. and Labor. Invest. 2; 83 (1950)
- (27) - Black R. Shaw H. et Walker T. - J. Chem. Soc. London 1931
272
- (28) - Blaustein A. V. - Canad. Med. Assoc. J., 62, 471 (1950) ~
et Blood Clotting a. Allied Problems 3d Conf. J. Macy
Found p. 40 (1950)
- (29) - Blum-Bergmann O. - Ber. 65, 109 (1932)
- (30) - Borsche W., Diacout K. et Hanan H. - Ber. 67, 680 (1934)
- (31) - Bouveault L. - Bull. Soc. Chim. Fr. (3) 19, 79 (1898)
- (32) - Boyd J., Robertson A. et Whalley W. - J. Chem. Soc. London
1948, 174

- (33) - Braun E. - Ber. 28, 1390 (1895)
- (34) - Brecht E. et Rogers C. - J. Amer. Pharm. Ass. 29, 178 (1940)
- (35) - Brinkhous K.M. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 66, 117 (1947)
- (36) - Buchanan G. Cook J. et London J. - J. Chem. Soc. London 1944, 325
- (37) - Burke G. et Wright J. - Blood Clotting a. Allied Problems J. Macy Found. 1950 p.57
- (37bis) - Bader et Vogel - J. Am. Chem. Soc., 74, 3992 (1952)
73, 4195 (1951)

C

- (38) - Campbell N.R., Dodds E.C. et Lawson - Nature 142, 1121 (1938)
- (39) - Canter F., Curd F. et Robertson A. - J. Chem. Soc. London 1931, 1255
- (40) - Canter F., Martin A. et Robertson A. - J. Chem. Soc. London 1931, 1877
- (41) - Chakravarti D. - J. Indian Chem. Soc. 8, 129, 407 (1931)
- (42) - Chakravarti D. - J. Indian Chem. Soc. 12, 536 (1935)
- (43) - Cibert, Favre Gilly, Traeger et Durand - Le Sang 23 n°6, 541 (1952)
- (44) - Collentine G.E. et Quick A. J. Am. J. Med. Sc. 222, 7 (1951)
- (45) - Conrad M. - Ann. 204, 174 (1880)
- (46) - Conrad M. et Guthzeit M. - Ann. 214, 32 (1882)
- (47) - Crabtree et Robinson R. - J. Chem. Soc. London 113, 867 (1918)
- (48) - Croizat P., Revol, Favre-Gilly J. et Cressey - le Sang 1948, 19, 26
- (48bis) - Colonge et Weinstein - Bull. Soc. Chim. 1952, 19, p.462

D

- (49) - Dam. H. - Bio. Chemisch. Zeitsch 215, 485 (1929)
- (50) - Dam H., Sondegaard E. - Bio. Chem. Biophys. Acta 2, 409 (1948)
- (51) - Darzens G. et Rost H. - C.R. Ac. Sc. 146, 934 (1908)
- (52) - Darzens G. - C.R. Ac. Sc. 150, 707 (1910)
- (53) - Décombe J. - C.R. Ac. Sc. 226, 1991 (1948)
- (54) - Deutsch H.F. et Gérarde H.W. - J.B.C. 166, 381 (1946)
- (55) - Dieckmann W. - Ann. 317, 27 (1901)
- (56) - Dieckmann W. - Ber. 47, 1439 (1914)
- (57) - Dodds E.C., Golberg L., Lawson W. et Robinson R. - Proc. Roy. Soc. (London) B. 127, 140 (1939) et Nature 142, 34 (1938)
- (58) - Duckert F., Loeliger A. et Kohler F. - Helv. Chim. Acta 34, 2431 (1951)
- (58bis) - Doyle et Coll. - Proc. Roy. Dublin Soc. 24, 291 (1948)
- (58ter) - Dunne et Coll. - J. Chem. Soc. London 1950, 1252

E

- (59) - Eis tert B. - Tautomérie et Mesomérie 1 vol. Presses Universitaires Fr. 1949

F

- (60) - Fantl.P. et Nance M. - Nature 158, 708 (1946)
- (61) - Favre-Gilly, Froment R., Gouin A., Ithier S. et Borel Mil-
het J. - Bull. et Mem. Soc. Med. Hôp. Paris 9 et 10
353 (1951)
- (62) - Favre-Gilly J., Molho D., Ithier S., Cotte J. et Froment R.
Revue Lyonnaise de Med. Janvier 1953 p.1
- (63) - Félix K., Pendl J., Pin P. et Rokal - Zeitsch f. Physiol.
Chem. 284, 185 (1949)
- (64) - Ferguson J. - Physiol. Rev. 16, 640 (1936)
- (65) - Ferguson J. - Amer. J. Physiol. 119, 755 (1937) et 123, 341
(1938)
- (66) - Fieser L. - J. Am. Chem. Soc. 48, 2924, 2927, 2933 (1926)
50, 439, 443, 459 (1928)
- (67) - Fieser L. - J. Am. Chem. Soc. 62, 1881 (1940)
- (68) - Fieser L., Hartwell J. et Jones J. - Org. Synth. 20, 11 (1940)
- (69) - Fieser L. et Martin E. - Org. Synth. 21, 56 (1941)
- (70) - Fieser L. - J. Am. Chem. Soc. 70, 3165 (1948)
- (71) - Fildes P. - Lancet 1, 955 (1940)
- (72) - Fournel J. et Bovet D. - Bull. Soc. Chim. Biol. 25, 390 (1943)
- (73) - Frank R., Eklund H., Richter J., Vanneman C. et Wermer-
berg A. - J. Am. Chem. Soc., 66, 1 (1944)
- (74) - Freund M. et Fleischer K. - Ann. 373, 294 (1910)
- (75) - Fritsch P. - Ann. 296, 357 (1897)
- (76) - Fröst H. - Ann. 250, 159 (1889)
- (77) - Fuson R., Ross W. et Mc Keever C. - J. Am. Chem. Soc. 60, 2935
(1938)

G

- (78) - Gabriel S. - Ber. 14, 922 (1881)
- (79) - Gabriel S. et Neumann A. - B. 26, 953 (1893)
- (80) - Gault H. - Bull. Soc. Chim. Fr. (4) 11, 381 (1912)
- (81) - Gérendas M. - Hong Acta Physiol. 1, 97 (1948) et
Nature 162, 257 (1948)
- (82) - Ghosal - J. Ind. Chem. Soc. 3, 105 (1926)
- (83) - Ghosh I. - J. Ind. Chem. Soc. 24, 321 (1947)
- (84) - Gley P. et Delor J. - Bull. Soc. Chim. Biol. 30, 891 (1948)
- (85) - Gueguen J. et Soulier J. P. - Revue d'Hématologie 3, 180
185 (1948)
- (86) - Gueguen J. - Thèse Médecine Paris 1948

H

- (87) - Halse Th. - Héparine U. Héparinoïdes - Hirzelverlag Stutt-
gart 1950 p.108
- (88) - Hantzsch A. - Ann. 392, 290 (1912)
- (89) - Haworth R. et Scheldrick G. - J. chem. Soc. London, 1934, 864
- (90) - Heilbronn I. et Hill D. - J. Chem. Soc. London 1927, 1705
- (91) - Heilbronn I., Hey D. et Lythgoe B. - J. Chem. Soc. London
1936, 295
- (92) - Heilbronn I., Hey D. et Lowe A. - J. Chem. Soc. London, 1934
1311, 1581
- (93) - Henle F. - Ann. 348, 29 (1906)
- (94) - Hoenig M. - Ber. 18, 3447 (1885)

- (95) - Honorato R., Rajus C. et Ivanovic N. - Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 68, 300 (1948)
 (96) - Honorato R. - Arch. Biochem. 1949, 22, 344
 (97) - Horeau A. et Jacques J. - C.R. Ac. Sc. 222, 1113 (1946)
 (98) - Horeau A. et Jacques J. - C.R. Ac. Sc. 224, 862, (1947)
 (99) - Howell W.H. et Holt E. - Am. J. Physiol. 47, 328 (1918)
 (100) - Howell W.H. - Physiol. Rev. 15, 435 (1935)
 (101) - Hultquist M. - Chem. Abstr. 42, 5051 (1948)

I

- (102) - Jacobsen E. et Reiner C. - Ber. 16, 2603 (1883)
 (103) - Jacobson et Ghosh B. - J. Chem. Soc. London 107, 1053 (1915)
 (104) - Janssen K.F. et Jensen K.A. - Z. Physiol. chem. 207, 66 (1942)
 (105) - Janssen H. - Ann. 250, 127 (1889)
 (106) - Jaques L.B. - Biochem. J. 37, 189 (1943)
 (107) - Jaques L.B. et Dunlop A.P. - Am. J. Physiol. 143, 355 (1945)
 (108) - Jaques L.B. et Waters E.T. - Am. J. Physiol. 129, 389 (1940)
 (109) - Jaques L.B., Taylor et Lopp W. - Feder. Proceed. 8, 81, (1949)
 (110) - Jaques L.B., Gordon E. et Lopp Z. - Canad. Med. Assoc. Journ. 62, 465 (1950) et Blood Clotting and Allied Problems 3^d Conf. J. Macy Found. 1950 p. 11
 (111) - Jaques L.B. et Spinks - Blood Clotting and Allied Problems 3^d Conf. J. Macy Found. 1950 p. 68
 (112) - Jayle, Badin, Ottolenghi-Preti - Ann. Biol. Clin. 1949, p. 311
 (113) - Johnson J. - Organic Reactions I, 234 (1942)
 (114) - Jones R.G. et Shonle H.A. - J. Am. Chem. Soc. 67, 1034 (1945)
 (115) - Jorpes J.E., Bergstroin H. et Mutt V. - J. BC 183, 607 (1950)
 (116) - Jurgens R. - Int. Z. Vitaminf. 19, 342 (1948)

K

- (117) - Kabat H., Stohlman E.F. et Smith M.J. - J. Pharmacol. 80 160 (1944)
 (118) - Kiewiet T. et Stephen H. - J. Chem. Soc. London 1931, 639
 (119) - Kilgore L. Ford J. et Wolfe W. - Ind. Eng. Chem. 34, 494 (1942)
 (120) - Kindler et Tsanping - Ber. 74, 321 (1941)
 (121) - Kleber C. - Ann. 246, 97 (1888)
 (122) - Klotz I. et Urquhart J. - J. Am. Chem. Soc. 71, 1597, 847 (1949) 74, 209 (1952)
 (123) - Knoevenagel E. - Ber. 27, 2546 (1894)
 (124) - Knoevenagel E. - Ber. 31, 2585, 2596 (1898); 37, 4461 (1904)
 (125) - Koelsch F. - J. Am. Chem. Soc. 58, 1331 (1936)
 (126) - Koelsch F. - Organ. Synth. 20, 18 (1940)
 (127) - Kohler E. - Am. Chem. J. 35, 386, (1906)
 (128) - Komnenos T. - Monat. 31, 692 (1910)
 (129) - Kostanecki St. V et Rozycki A. - Ber. 34, 102 (1901)
 (130) - Kuhn R., Wey gand F. et Moeller E.F. - Ber. 76, 1044 (1943)

L

- (131) - Laki K - Schweiz. Med. Wochenschr. 74, 13 (1944)
 (132) - Lee C. Trevoy L., Spinks J. et Jaques L.B. - Proc. Soc. Exp. Biol. a Med. 74, 151 (1950)
 (133) - Lee-White - Amer. J. Med. Sc. 145, 495 (1913)

- (134) - Lehmann J. - Lancet I, 458 (1943)
- (135) - Leuchs H. - Ber.44, 1510 (1911)
- (136) - Leuchs H. - Ber.61, 144 (1928)
- (137) - Leupold E. - Ber.34, 2836 (1901)
- (138) - Levy Solal E., Badin J., Choukroun J. - Sem.Hôp.Paris
27,1223 (1950) Gynec.et Obstetr.50, 1 (1951)
- (139) - Little J.E., Sproston T. et Foote M. - J.B.C.174, 335 (1948)
- (140) - Lund H. et Voigt A. - Org.Synth.17, 86 (1937)

M

- (141) - Mangieri C.N., Engelberg R., Randall L.O. - J.Pharm.Exp.
Thérapi102, 156 (1951)
- (142) - Mann F. et Hurn M. - Proc.Soc.Exp.Biol.a Med.67, 83 (1948)
- (143) - Mann F.D., Barker, Hurn M. - Blood 6, 838 (1951)
- (144) - Martin G.J. et Swayne V. - Science 109, 201 (1949)
- (145) - Matis, Hager - Z.ges.exper.Med.Dtsch.118, n°2, 131, (1951)
- (146) - Mawson H. - Biochem.J.44 XI (1949)
- (147) - Mc Fadyen J. et Stevens T. - J.chem.Soc.London 1936, 584
- (148) - Meerwein H. et Vossen D. - J.pr chem.141, 149 (1934)
- (149) - Mentzer C. et Meunier P. - Bull.Soc.Chim.Biol.25, 379 (1943)
- (150) - Mentzer C., Meunier P., Lecoq J. et Billet D. - Bull.Soc.
chim. 12 (5°) 430 (1945)
- (151) - Mentzer C., Gley P., Molho D. et Billet D. - Bull.Soc.Chim.
13 (5°) 271 (1946)
- (151bis) - Mentzer C. et Urbain - C.R.Ac.Sc.215, 554 (1942)
- (152) - Mentzer C. - Thèse Sciences Paris 1947
- (153) - Mentzer C. - Bull.Soc.Chim.Biol. 30, 872 (1948)
- (154) - Mentzer C., Molho D. et Vercier P. - Bull.Soc.Chim.16, 749
(1949)
- (155) - Mentzer C. et Molho D. - C.R.Ac.Sc. 230, 406 (1950)
- (156) - Mentzer C., Molho D. et Vercier P. - C.R.Ac.Sciences 232
1488 (1951)
- (157) - Mentzer C., Molho D. et Vercier P. - Bull.Soc.Chim. 19 (5°)
91 (1952)
- (158) - Meunier P. - C.R. Ac.Sc. 211, 668 (1940)
- (159) - Meunier P. et Dreyfus A. - Bull.Soc.Chim.Biol.22, 529 (1940)
- (160) - Meunier P. et Mentzer C. - Bull.Soc.Chim.Biol.24, 371 (1942)
- (161) - Meunier P. et Mentzer C. - C.R.Ac.Sc.215, 259 (1942) et
Bull.Soc.Chim.Biol.25, 1 (1943)
- (162) - Meunier P., Mentzer C., Buu Hoï et Cagniant -
Bull.Soc.Chim.Biol. 25, 384 (1945)
- (163) - Meunier P., Mentzer C. et Buu Hoï, Bull.Soc.Chim.Biol.
27, 191 (1945)
- (164) - Meunier P., Mentzer C. et Vinet A. - Helv.Chim.Acta 29, 1291
(1946)
- (165) - Meunier P., Mentzer C. et Molho D. - C.R.Ac.Sc.224, 1666
(1947)
- (166) - Meunier P., Molho D., Moraux J. et Cotte J. - C.R.Soc.
Biol. 144, 141 (1950)
- (167) - Meyer Evon - J.pr (2) 52 116 (1895)
- (168) - Meyer K.H. et Schwartz D.E. - Experientia 6, 332 (1950)
- (169) - Michael A. - J.pr.chem.(2) 72, 553 (1905)
- (170) - Miescher K. - Experientia 5, 1 (1949)
- (171) - Molho D. et Mentzer C. - C.R.Ac.Sc.223, 333 (1946)

- (172) - Molho D. - Bull.Soc.Chim.Fr.(5°) 15, 1042 (1948)
 (173) - Molho D.,Moraux J.et Meunier P.-Bull.Soc.Chim.Biol.
30, 637 (1948)
 (174) - Molho D. et L.Lacroix -Bull.Soc.Chim.Biol. 31, 1341
 1357 (1949) et C.R. Soc. Biologie Séance 10 Juil.1949
 (175) - Molho D. et Mentzer C.- Experientia 6, 11 (1950)
 (176) - Molho D. et Mentzer C.-Bull.Soc.Chim.Fr.(5e)18,544
 (1951)
 (177) - Molho D. et Cotta J.-Bull.Soc.Chim.Biol.33,312 (1951)
 (178) - Molho D.et L.Molho-Lacroix - Bull.Soc.Chim.Biol. 34
 99 (1952)
 (179) - Molho D. - C.R. Ac.Sc.234, 1323 (1952)
 (180) - Molho D. - Lyon Pharmaceutique n°9 - Nov.1952 p.1
 (181) - Molho D. et L.Molho-Lacroix - C.R.Ac.Sc:235,522 (1952)
 (182) - Molho D. - Société de Pharmacie (Sous presse 1953)
 et Lyon Pharmaceut.n°5,1, 144 (1953)
 (183) - Moraux J. - Thèse en cours
 (184) - Morawitz P.- Arch.f Klin.Med.72, 1, 25, 215 (1904)
 (185) - Munro F. et Lupton A.-Arch.Biochem.15, 245 (1947)

N

- (186) - Nathanson F. - Ber. 26, 2576 (1893)
 (187) - Naik K.,Desai R.,Trivedi R. -J.Ind.Chem.Soc.6,801 (1929)
 (188) - Nioderl J.et Ziering A.-J.Am.Chem.Soc.64, 885 (1942)
 (189) - Nicmann C.,Lewis R. et Hays J.-J.Am.Chem.Soc. 64, 1678
 (190) - Nutrition Revews - 10 n°5 139 (1952) (1942)
 (190bis) - Nowlan et Coll.J.Chem.Soc.London 1950, 540

O

- (191) - Ogliastro Ag.- Gaz 8, 429 (1878)
 (192) - Onnertz P.- Ber.34, 3735 (1901)
 (193) - Overman,Stahmann et Link-J.BC 145, 155 (1942)
 (194) - Overman et coll.- J.Bc 153, 5 (1944)
 (195) - Owen C.et Bollman J.-Proc.Soc.Exp.Biol.a mod. 67, 231
 (1948)
 (196) - Owen C.et Bollman J.-Proc.Soc.Exp.Biol.a Med.67,367(1948)
 (197) - Owen C.A.Magatt Th.B.et Bollman J.- Amer.J.Physiol.
166, 1 (1951)
 (198) - Owren P.A. - Acta Med.Scand.1947 Suppl.194 The coagul.of
 Blood Oslo (1947)
 (199) - Owren P.A.- Revue d'hématologie 6,135 (1951)et 7,147(1952)

P

- (199bis) - Palos L.A. Exper. 5 , 207 (1949)
 (200) - Pantlitchko,Schmid,Seelich,et Kaiser Hoppe Seyler -
 Ztsch f physiol.chem. 289, 44 (1951)
 (201) - Pauly H.et Lockemann K.- Ber.1915, 48, 28
 (202) - Peak D.,Robinson R.et Walker J.-J.chem.Soc.London 1936
 754
 (203) - Pechmann V.et Duisberg - Ber.16, 2127 (1883)
 (204) - Perkin W.H.- J.chem.Soc.London 1868,53 et 1877, 388
 (205) - Perkin W. - J.Chem.Soc.London 47, 278 (1885)
 (206) - Perkin W.H. Jun. - Ber.19, 1054 (1886)
 (207) - Perkin W.Jun.et Prontice B.-J.Chem.Soc.London 59, 992
 (1891)

- (208) - Perlick - Z.ges. u. Med. Grenzzob. Dtsch 7, 180 (1952)
- (209) - Petchok E. et Simonis H. - Ber. 46, 20 14 (1913)
- (210) - Pickard R. et Kenyon J. - J. Chem. Soc. London 99, 71 (1911)
- (211) - Plattner Pl A., Sandrin R. et Wyss J. - Helv. Chim. Acta
29, 1606 (1946)

Q

- (212) - Quick A.J., Stanley Brown M. et Bancroft F.W. - Am. J.
Med. Sc. 190, 501 (1935)
- (213) - Quick A.J. - J. BC 109, 73 (1935)
- (214) - Quick A.J. - Amer. J. Physiol. 118, 260 (1937)
- (215) - Quick A.J. - Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 40, 206 (1939)
- (216) - Quick A.J. - Amer. J. Physiol. 131, 455 (1940)
- (217) - Quick A.J. - The hemorrhagic disease the physiology
of hemostasis C.C. Thomas 1942
- (218) - Quick A.J. - Amer. J. Physiol. 140, 212 (1943)
- (219) - Quick A.J. - Physiol. Rev. 24, 297 (1944)
- (220) - Quick A.J. - Am. J. Clin. Pathol. 15, 560 (1945)
- (221) - Quick A.J. - Am. J. Med. Sc. 214, 273 (1947)
- (222) - Quick A.J. - Am. J. Physiol. 148, 211 (1947)
- (223) - Quick A.J. et Stefanini M. - J. Lab. Clin. Med. 33, 819 (1948)
- (224) - Quick A.J. et Stefanini M. - J. Gen. Physiol. 190, 32 (1948)
- (225) - Quick A.J. et Stefanini M. - Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 72
232, (1949)
- (226) - Quick A.J. - Blood Clotting & Allied Problems 3^d Conf.
J. Macy Found 1950 p. 182
- (227) - Quick A.J. - Am. J. Physiol. 164, 716 (1951)

R

- (228) - Rapson W. et Shuttleworth R. - J. Chem. Soc. London 1940, 637
- (229) - Reissert A. - Ber. 46, 1489 (1913) et Frdl 11, 196 (1912-14)
- (229Bis) - Reissert et Holle - Ber. 44, 30 33
- (230) - Riedel - D.R.P. 422036
- (231) - Robertson A., Sandrock W., Hendry C. - J. Chem. Soc. London
1931, 2426
- (232) - Robertson A., Waters R. et Jones E. - J. Chem. Soc. London
1932, 1681
- (233) - Roderick L.M. - J. Am. Vet. M. 74, 314 (1929) et Am. J.
Physiol. 96, 413 (1931)
- (234) - Rosicky - Casopis Lekarn Ceskych - 41, 1234, 1944 (1944)
- (235) - Ruhemann A. - Ber. 24, 3965 (1891)

S

- (236) - Salzer Z. - Physiol. Chem. 274, 39 (1942)
- (237) - Scheuring - Biochem. Z. 279, 436 (1935)
- (238) - Schilling et Coll. - Am. J. Med. Sc. 215, 415 (1948)
- (239) - Schofield F.S. - Canad. Vet. Rec. 3, 74 (1922)
- (240) - Scholl R. et Seer. C. - Ber. 55, 334 (1922)
- (241) - Schwenk E. et Bloch E. - J. Am. Chem. Soc. 64, 3051 (1942)
- (242) - Seegers W.H., Loomis E.C. et Vandenbelt J.M. - Arch.
Biochem. 6, 85 (1945)
- (243) - Seegers W.H. et Ware A. - Am. J. Clin. Pathol. 19, 41 (1949)
- (244) - Sen H. et Basu V. - J. Ind. Chem. Soc. 5, 467 (1928)

- (245) - Sethna S. et Shah R. - J.Ind.Chem.Soc. 15, 383 (1938)
 (246) - Shapiro - Proc.Soc.Exp.Biol. a Med. 50, 85 (1942)
 (247) - Short W., Stromberg H. et Wiles A. - J.Chem.Soc.London 1936, 319
 (248) - Simmonds S. et Fruton J. - Science 111, 329 (1950)
 (249) - Simon J. - Thèse Médecine Paris 1950
 (250) - Simonsen J. - J.Chem.Soc.London 93, 1777 (1908)
 (251) - Smith C.C., Fradkin R. et Lackey - Proc.Soc.Exp.Biol. a Med. 61, 398 (1946)
 (252) - Solmsen U.V. - J.Am.Chem.Soc. 65, 2370 (1943)
 (253) - Sommelet C.R.Ac. Sc. 157, 852 (1913)
 (254) - Sonn A. - Ber. 50, 1299 (1917)
 (255) - Sorbife, Kruse et Dam H. - Acta Chem.Scand. 4, 549, 831
 (256) - SORENSON W. et Wright J. - Blood Clotting a. Al- (1950)
 lied Problems 3rd Conf. J. Macy Found 1950, p. 83
 (257) - Soulier J.P. et Gneguen J. - C.R.Soc.Biol. 141, 1007 (1947)
 (258) - Stahmann M., Huebner et Link K.P. - J. BC 138, 513 (1941)
 (259) - Stahmann M., Wolff J. et Link K.P. - J. Am. Chem. Soc. 65
 2285 (1943)
 (260) - Stefanini M. et Blanchar - Proc.Soc.Exp.Biol. a Med. 64, 47 (1947)
 (261) - Stefanini M. - Am.J.Clin.Pathol. 13, 537 (1948)
 (236Bis) - Schales - Arch.Biochem.Bioph. 34, 56 (1951)
 (243Bis) - Seegers - Arch.Biochim.Biophys. 36, 484 (1952)
 259 bis Stamen et Warner Proc Soc Exp Biol Med 78, 754 (1952)
I
 (262) - Tanturi C.A. et Wetzel N.S. - Amer.J.Med.Sc. 217, 410 (1949)
 (263) - Taylor F.H.L. Lozner, Davidson C.S., Tagnon H.J. et Newhouser - J.Clin.Invest. 23, 351 (1944)
 (264) - Tishler M. et Sampson W. - J.Amer.Chem.Soc. 61, 2563 (1939)
 (265) - Truglio et Rosolia - Bull.Soc.Ital.Biol.Sper. 23, 1142 (1947)
 (266) - Tzank A. et Burstein M. Red'hématol I, 35 (1946)

U

- (267) - Urbain et Mentzer C. - Bull.Soc.Chim.Fr. (5) 11, 171 (1944)

V

- (268) - Vercier P., Molho D. et Mentzer C. - Bull.Soc.Chim.Fr. (5e) 17, 1248 (1950)
 (269) - Vercier P. - Thèse Ing.Doct.Lyon (1952)
 (270) - Vicaria et Gaglio - Bull.Soc.Ital.Biol.Sper. 23, 1142 (1947)
 (271) - Vilsmeier A. et Haack A. - Ber. 60, 119 (1927)
 (272) - Volkert M. - Acta Physiol.Scand. 5 suppl.15 (1942)
 (273) - Volkert M. - Bioschem Z. 114, 51 (1943)
 (274) - Von Kaulla N.V. - Klin. Woch. 22, 205 (1943)
 (275) - Von Zarday J. - Wien - Arch. inn.Med. 24, 283 (1933)

W

- (276)- Wahl A. et Silberzweig C.-Bull.Soc.Chim.Fr.(4) 11, 25
(1912)
- (277)- Walther R. et Schiekler P.-J.pr.ch.(2) 55, 543 (1897)
- (278)- Walther R. Von, et Wetzlich A.-J.pr.ch.(2) 61, 178 (1900)
- (279)- Walton - Brit.J.Pharmacol.7, 370 (1952)
- (280)- Wanag et Wolbe - Ber.69, 1054 (1936)
- (281)- Ware A., Guest M., Seegers W.-Science 106, 41 (1947)
et J.B.C. 169, 231 (1947)
J.B.C. 174, 565 (1948)
- (282)- Ware A. et Seegers W. - Am.J.Physiol.152, 567 (1948)
- (283)- Warner E.D., Brinkhous K.M. et Smith H.P. - Amer.J.Physiol.
114, 667 (1936) et 125, 297 (1939)
- (284)- Warner E., Brinkhous K. et Smith H.-Proc.Soc.Exp.Biol.
a Med.40, 197 (1939)
- (284Bis)- Weber G. et Drachsler K - Amer.J.Physiol.162; 665 (1950)
- (285)- Weiss R., Grobstein K. et Sauermann R. - Ber.69, 306
(1926)
- (286)- Werner M. et Shapiro - Blood 4 977 (1949)
- (287)- Wiltner H., Grunning W. et Wohlisch E. - Biochem. Z.
307, 324 (1940)
- (288)- Wislicenus W. - Ber, 19, 5225 (1886)
- (289)- Wislicenus W. - Ber.20, 589 (1887)
- (290)- Wislicenus W. et Kötzle A. - Ann. 252, 81 (1889)
- (291)- Wislicenus W. et Mungesheimer M. - Ber.31, 555 (1898)
- (292)- Witt O et Braun O - Ber. 47, 3219 (1914)
- (293)- Wittig G. - Ber. 57, 82, 95 (1924)
- (294)- Wohlisch E. et Kohler V. - Bioschem. Z. 311, 408 (1942)
- (295)- Wojack G. - Ber.71, 1108 (1938)
- (296)- Woods D.D. - Brit.J. Exp.Path.21, 74 et 38 (1940)
- (297)- Woolley D.W. et White A. - J. Exptl.Med.78, 489 (1943)
- (298)- Woolley D.W. - Science 100, 579 (1944).

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

TABLE DES MATIERES

Pages

- INTRODUCTION		1
A - Position du problème		1
B - Plan du travail		2
C - Définition des données biologiques		3

1ère Partie.- ANALOGIE STRUCTURALE et ACTIVITE HYPOPROTHROMBINEMIANTE

- Historique		5
- Recherches personnelles		8
• Corps symétriques		8
• Corps asymétriques		10
• Série hétérocyclique		
Les Coumarines		10
Les chromones		21
• Corps naphthaléniques		22
• Phényl-indanedione		30
• Modifications structurales relatives à l'activité hypoprothrombiné- mante du P.I.D.		31
- Conclusions		38

2ème Partie.- ANALOGIE STRUCTURALE et ACTION OESTRO- GENE en RELATION avec l'ACTIVITE HYPO- PROTHROMBINEMIANTE

		39
- P.I.D. et structures indaniques		40
- P.I.D. et structures apparentées au dihydro stilboestrol		43
- Dicoumarol et Coumarines oestrogènes		45
- Dissociation des activités oestrogène et antivitaminique K		46
- Conclusions		52

3ème Partie.- PARTIE BIOLOGIQUE

Plan détaillé, voir		54
I - Introduction		56
II - Mode d'action du P.I.D. in vivo		64
III - Activité antivitaminique K comparative de quelques Aryl-indanediones in vivo chez le rat		104
IV - Action anticoagulante éventuelle du P.I.D. in vitro		113

4ème Partie.- SYNTHESES ORGANIQUES

I - Série Hétérocyclique		130
- Méthodes de synthèses des benzopyrones : Coumarines et chromones .-		
Rappel des méthodes connues		130
Travaux personnels		135

	Pages
A - Coumarines	
1) . Alkyl-4 coumarines.....	135
a) Aryl-3 alkyl-4 coumarines	136
b) Aryl méthyl-3 coumarines	140
2) Hydroxy-4 coumarines	142
a) Dérivés obtenus	
- Préparation des esters maloniques	145
b) Hydroxy-4 coumarines à cycle po- tentiel	149
B - Chromones	150
Nouvelle méthode de synthèse des chro- mone s	151
C - Interprétation du mécanisme d'obten- tion des benzopyrones.....	153
II - Série naphtalénique.....	161
A - Tétralones	
1) Aryl méthyl-2 tétralones 1 ...	161
2) Aryl méthyl 2 tétralones 1	162
3) β -dicétones dérivés de la tétralone	162
B - Naphtoquinones	163
C - Corps naphtaléniques	165
III - Série indanique	171
A - Aryl-2 indane diones 1-3	171
a) Méthode de Gabriel	173
b) Méthode de Dieckmann	175
- Dégradation des Arylindane diones..	178
- Préparation des aldéhydes aromatiques	178
B - Indanones	181
C - Indènones	185
D - Corps ouverts à cycles potentiels ...	186
- CONCLUSIONS GENERALES	187
- BIBLIOGRAPHIE	190

DEUXIEME THESE

PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE

METACHROMASIE DE QUELQUES COLORANTS BASIQUES
EN PRESENCE DE GROSSES MOLECULES A CARACTERE
ACIDE

VU :

Les Membres du Jury,

MM. D. CORDIER

C. MENTZER

J. COLONGE

Vu et approuvé :

Le Doyen de la Faculté des Sciences
de Lyon :

pour le Doyen :
l'Assesseur,

H. EYRAUD

Vu et permis d'imprimer

LYON, le 12 octobre 1953

Le Recteur,

Président du Conseil de l'Université

A. ALLIX

